



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación e
Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N° 3 1 4 5

BUENOS AIRES 3 1 MAR 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-4888/15-5 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma TECNOLAB S.A. solicita la modificación del producto diagnóstico de uso "in Vitro" denominado 1) Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test.2) WASH BUFFER CONCENTRATE, autorizado por Certificado N° 005043.

Que a fojas 138 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establecen que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, y Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

**EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA**

D I S P O N E:



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación e
Institutos
A.N. M. A T

DISPOSICIÓN N° **3145**

ARTÍCULO 1º.- Autorízase a la firma TECNOLAB S.A. las modificaciones que se detallan en el Anexo del producto para diagnóstico de uso In Vitro denominado 1) Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test.2) WASH BUFFER CONCENTRATE.

ARTÍCULO 2º.- Acéptense los nuevos proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 46 a 135. Desglosándose las fojas 111 a 135 en donde deberán constar las modificaciones mencionadas en el Art 1º precedente y anexo.

ARTÍCULO 3º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 005043, cuando el mismo se presente acompañado de la fotocopia autenticada de la presente Disposición.

ARTÍCULO 4º.- Regístrese; gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con los nuevos proyectos de rótulos y manual de instrucciones. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-4888/15-5

DISPOSICIÓN N°:

Fd

3145

Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación e
Institutos
A.N.M. A.T

3145

ANEXO

Expte. Nº 1-47-3110-4888/15-5

PRODUCTO:

Ampliación y / o Modificación	Anteriormente Aprobada	Modificaciones solicitadas
*Modificación del Origen de elaboración	QUIAGEN GmbH – 1201 Cloper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.	QUIAGEN – 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, USA.
* Cambio de nombre	1) Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test. 2) WASH BUFFER CONCENTRATE.	1) <i>digene</i> [®] HC2 High-Risk HPV DNA Test. 2) <i>digene</i> [®] wash buffer concentrate.
* Ampliación y modificación de la forma de Presentación	<ul style="list-style-type: none"> - Indicador de color: 1 x 0.35 ml - Reactivo de desnaturalización: 1 x 50 ml - Diluyente de sonda: 1 x 7 ml. - Sonda de HPV de alto riesgo: 1 x 200 µl - QC HPV LOW-RISK 1 x 1 ml - QC HPV HIGH-RISK 1 x 1 ml - Calibrador negativo: 1 x 2 ml - Calibrador de HPV de alto riesgo: 1 x 1 ml. - Microplaca de captura: 1 unidad - Reactivo de detección 1: 1 x 12 ml. - Reactivo de detección 2: 1 x 12 ml. - Buffer de lavado concentrado: 1 x 100 ml. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cod: 5199-1220: - Indicador de color: 1 x 0.35 ml - Reactivo de desnaturalización: 1 x 50 ml - Diluyente de sonda: 1 x 5 ml. - Sonda de HPV de alto riesgo: 1 x 200 µl - QC HPV LOW-RISK 1 x 1 ml - QC HPV HIGH-RISK 1 x 1 ml - Calibrador negativo: 1 x 2 ml - Calibrador de HPV de alto riesgo: 1 x 1 ml. - Microplaca de captura: 1 unidad - Reactivo de detección 1: 1 x 12 ml. - Reactivo de detección 2: 1 x 12 ml. - Buffer de lavado concentrado: 1 x 100 ml.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación e
Institutos
A.N.M.A.T

		<ul style="list-style-type: none">• Cod: 5199-00016- Indicador de color: 1 x 2 ml- Reactivo de desnaturalización: 2 x 100 ml- Diluyente de sonda: 1 x 20 ml.- Sonda de HPV de alto riesgo: 3 x 200 µl- QC HPV LOW-RISK 1 x 1 ml- QC HPV HIGH-RISK 1 x 1 ml- Calibrador negativo: 1 x 2 ml- Calibrador de HPV de alto riesgo: 1 x 2 ml.- Microplaca de captura: 4 unidades.- Reactivo de detección 1: 1 x 40 ml.- Reactivo de detección 2: 1 x 40 ml.- Buffer de lavado concentrado: 2 x 100 ml.
--	--	---

DISPOSICIÓN Nº:

fd

3 1 4 5


DR. ROBERTO LEIDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

3475




PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

5199-1220 X 1 PLATE


31 MAR 2016
31 MAR 2016








digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

- 0.35 ml Indicator Dye
- 50 ml Denaturation Reagent
- 5 ml Probe Diluent
- 200 µl High-Risk HPV Probe
- 2 ml Negative Calibrator
- 1 ml High-Risk HPV Calibrator
- 1 ml Low-Risk HPV Quality Control
- 1 ml High-Risk HPV Quality Control
- 1 each Capture Microplate
- 12 ml Detection Reagent 1
- 12 ml Detection Reagent 2
- 100 ml Wash Buffer Concentrate

QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA
www.QIAGEN.com
+1-800-426-8157
Product of United States

 QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
43724 Hilden
GERMANY
+49 2103 290

IVD    zc  

1059747 Rev. 2 Patente 6,221,581

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 - c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN, 19300 Germantown Rd, Germantown, MD 20874. USA.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD
CERTIFICADO N°: 005043

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]


MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

3175



digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

5199-00016 X 4 PLATE



digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

2 ml	Indicator Dye
2 x 100 ml	Denaturation Reagent
20 ml	Probe Diluent
3 x 200 µl	High-Risk HPV Probe
2 ml	Negative Calibrator
2 ml	High-Risk HPV Calibrator
1 ml	Low-Risk HPV Quality Control
1 ml	High-Risk HPV Quality Control
4 each	Capture Microplate
.40 ml	Detection Reagent 1
.40 ml	Detection Reagent 2

QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA
www.QIAGEN.com
+1.800.426.8157
Product of United States

CE-IVD
QIAGEN GmbH
QIAGEN Straße 1
40724 Hilden
GERMANY
+49 2103 290

IVD CE 334 ZC 8°C RX ONLY

1059742 Rev. 05 Patent 6,221,341

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba Nº 964 - c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN, 19300 Germantown Rd, Germantown, MD 20874. USA.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD

CERTIFICADO N°: 005043


Handwritten signature and star symbol

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

3145



digene® Wash Buffer Concentrate




digene® Wash Buffer Concentrate

2 x 100 ml Wash Buffer x 30

QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA
www.QIAGEN.com
+1-800-426-8157
Product of United States

ECT REP
QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY
+49 2103 290



1059743 Rev. 05 Patent 6,221,581

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba Nº 964 - c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN, 19300 Germantown Rd, Germantown, MD 20874. USA.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD

CERTIFICADO N°: 005043

Handwritten signature and initials on the left margin.

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.



PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS
digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

5199-1220 X 1 PLATE

Detection Reagent 2
12 ml

REF 1058225

LOT

2°C → 8°C

1090971 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA

Product of United States

Wash Buffer Concentrate
100 ml

REF 1039488

LOT

2°C → 30°C

1090972 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA

Product of United States

Capture Microplate X 1

REF 1058243

LOT

2°C → 8°C

1090980 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA

Product of United States

Denaturation Reagent
50 ml

REF 1058221

LOT

2°C → 30°C

1090982 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA

Product of United States

High-Risk HPV Quality Control
1 ml

REF 1081193

LOT

2°C → 8°C

1090979 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA

Product of United States

Low-Risk HPV Quality Control
1 ml

REF 1081192

LOT

2°C → 8°C

1090978 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA

Product of United States

Indicator Dye
0.35 ml

REF 1058222

LOT

2°C → 30°C

1090968 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA

Product of United States

High-Risk HPV Probe
200 µl

REF 1058230

LOT

2°C → 8°C

1090975 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA

Product of United States

Handwritten mark

Handwritten mark

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA S.A. N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

314



High-Risk HPV Calibrator
1 ml

REF 1081191

LOT

20°C 8°C

1090977 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

Negative Calibrator
2 ml

REF 1081189

LOT

20°C 8°C

1090968 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

Detection Reagent 1
12 ml

REF 1058224

LOT

20°C 8°C

1090970 Rev. 01

QIAGEN
Maryland, USA

Product of United States

Probe Diluent
5 ml

REF 1058223

LOT

20°C 8°C

1090969 Rev. 01

contains acetic acid; polyacrylic acid

QIAGEN
Maryland, USA

Product of United States

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

MARISO MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECHOLAB S.A.

3145



digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test

5199-00016 X 4 PLATE

Detection Reagent 2
40 ml

REF 1058213

LOT

1090985 Rev. 01

Product of United States

Wash Buffer Concentrate
100 ml

REF 1059688

LOT

1090972 Rev. 01

Product of United States

contains sodium azide

Capture Microplate X 1

REF 1058243

LOT

1090980 Rev. 01

Product of United States

High-Risk HPV Calibrator
2 ml

REF 1081179

LOT

1090986 Rev. 01

Product of United States

Low-Risk HPV Quality Control
1 ml

REF 1081192

LOT

1090978 Rev. 01

Product of United States

Denaturation Reagent
100 ml

REF 1058209

LOT

1090981 Rev. 01

Product of United States

contains sodium hydroxide

Handwritten signature

Handwritten signature

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

3145

Página 7 de 8



Indicator Dye
2 ml

REF 1058210

LOT

2°C 30°C

1090982 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

High-Risk HPV Probe
200 µl

REF 1058230

LOT

2°C 8°C

1090975 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

Negative Calibrator
2 ml

REF 1081189

LOT

2°C 8°C

1090966 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

High-Risk HPV Quality Control
1 ml

REF 1081193

LOT

2°C 8°C

1090979 Rev. 01

QIAGEN • Maryland, USA
Product of United States

Detection Reagent 1
40 ml

REF 1058212

LOT

2°C 8°C

1090984 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA
Product of United States

Probe Diluent
20 ml

REF 1058211

LOT

2°C 8°C

1090983 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA
Product of United States

contains acetic acid; polyacrylic acid

Handwritten signature


Handwritten signature

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 8483
DT-TECNOLAB S.A.


31745



digene® Wash Buffer Concentrate



contains
sodium azide




QIAGEN


Wash Buffer Concentrate

100 ml


REF 1059688




2°C 30°C



LOT




1090972 Rev. 01



QIAGEN
Maryland, USA

Product of United States



MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A



5
1
1
3

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

Prueba de ADN del VPH de alto riesgo «digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test»

Un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos *in vitro* con amplificación de señales usando quimioluminiscencia de microplacas para la detección cualitativa del virus del papiloma humano (VPH) tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 en especímenes cervicales.

Para su uso con:
Dispositivo de recolección de ADN «digene® HC2 DNA Collection Device»
Medio de transporte de especímenes «digene® Specimen Transport Medium»
Solución «HOLOGIC PreservCy® Solution»


CAMBIOS CLAVES DE LA REVISIÓN DEL PROSPECTO ANTERIOR
1. Información del fabricante y fijación de marca del producto actualizados.

Para uso profesional solamente, por personal de laboratorio capacitado y validado.
Léanse estas instrucciones cuidadosamente antes de usar la prueba.

¡IMPORTANTE!
Cuando use el sistema «Rapid Capture® System», remítase a la guía de usuario del sistema Rapid Capture para la preparación de los reactivos de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo «digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test» para los kits de 1 placa ó 4 placas, como sea apropiado.



REF 5199-1220 (1-plate kit)
5199-00016 (4-plate kit)

IVD Σ Σ
96 384


QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA
1059744ES Rev. 02




MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA N. 0483
DT-TECNOLAB S.A.

Sample & Assay Technologies

  **tecnolab s.a.**
estomba 964 . c1427gov
capital federal . argentina
tel. 54 11 4555 0010
54 11 4859 5300
fax 54 11 4553 3331
info@tecnolab.com.ar
www.tecnolab.com.ar
ISO 9001:2008 certificada

Índice

NOMBRE Y USO INDICADO	1	EN MUJERES DE 30 AÑOS DE EDAD Y MAYORES, DESEMPEÑO DE TAMIZAJE DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO <i>digene</i> HC2 COMO ADYUVANTE A LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU PARA AYUDAR A GUIAR EL CONTROL DE PACIENTES	35
RESUMEN Y EXPLICACIÓN.....	2	SENSIBILIDAD ANALÍTICA	35
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO	4	EQUIVALENCIA ENTRE STM Y ESPECÍMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVCYT.....	37
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO PROPORCIONADO	5	REPRODUCIBILIDAD	37
MATERIALES REQUERIDOS MAS NO SUMINISTRADOS	6	REACTIVIDAD CRUZADA	40
ALERTAS Y PRECAUCIONES	8	PANEL DE REACTIVIDAD CRUZADA	40
PRECAUCIONES DE SEGURIDAD	8	HIBRIDACIÓN CRUZADA	40
PRUEBAS AUTOMATIZADAS POR RCS.....	8	EFFECTO DE LA SANGRE Y OTRAS SUSTANCIAS EN ESPECÍMENES DE STM.....	41
DECLARACIONES DE SEGURIDAD Y RIESGOS PARA LOS COMPONENTES	8	EFFECTO DE LA SANGRE Y OTRAS SUSTANCIAS EN LOS ESPECÍMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVCYT	41
MÁS INFORMACIÓN	9	REPRODUCIBILIDAD DE LA PRUEBA DEL ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO <i>digene</i> HC2 CON ESPECÍMENES CLÍNICOS RECOLECTADOS EN STM	41
RECAUCIONES DE MANEJO	9	REPRODUCIBILIDAD DE LOS ESPECÍMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVCYT EN LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO <i>digene</i> HC2	42
PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS.....	11	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPECÍMENES	14	GUÍA DE IDENTIFICACIÓN Y SOLUCIÓN DE PROBLEMAS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO <i>digene</i> HC2	47
CEPILLOS CERVICALES *	14	VERIFICACIÓN DE CONTAMINACIÓN	51
BIOPSIAS CERVICALES *	14	INFORMACIÓN DE PEDIDOS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO <i>digene</i> HC2, REACTIVOS, ACCESORIOS Y EQUIPO.....	52
ESPECÍMENES DE LA SOLUCIÓN HOLOGIC PRESERVCYT.....	15	INFORMACIÓN DE CONTACTO	53
PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA	16		
Pruebas de producción de muestras de alto volumen usando la aplicación del instrumental RCS	16		
PREPARACIÓN.....	16		
DESNATURALIZACIÓN	17		
STM de calibradores, controles de calidad y especímenes (incluyendo los especímenes de la biopsia del dispositivo de recolección de ADN « <i>digene</i> HC2 DNA Collection Devices»).....	17		
Procedimiento de preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt	19		
Punto de para opcional.....	21		
HIBRIDACIÓN	22		
CAPTURA HÍBRIDA	23		
DETECCIÓN HÍBRIDA	24		
LAVADO	25		
Método automatizado de lavadora de placas	25		
Método de lavado manual.....	25		
AMPLIFICACIÓN DE SEÑALES	25		
CRITERIOS DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DE ENSAYOS	26		
CÁLCULO DEL CORTE	28		
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE ESPECÍMENES	29		
ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO.....	30		
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	30		
RESULTADOS ESPERADOS.....	32		
PREVALENCIA DEL VPH DE ALTO RIESGO	32		
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO	34		
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS PARA TAMIZAR PACIENTES CON RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU DE ASC-US PARA DETERMINAR LA NECESIDAD DE REFERENCIA A COLPOSCOPIA	34		



5745

NOMBRE Y USO INDICADO

La prueba de ADN del VPH de alto riesgo «*digene*» HC2 High-Risk HPV DNA Test, que usa la tecnología Hybrid Capture[®] 2 (HC2), es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos *in vitro* con amplificación de señales que usa quimioluminiscencia de micropartículas para la detección cualitativa de tres tipos de alto riesgo del ADN del virus del papiloma humano (VPH) en especímenes cervicales. Los tipos de VPH detectados por el ensayo son los tipos de VPH de alto riesgo 16/18/31/33/35/39/45/18/25/66/52/59/68. La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 no puede determinar el tipo de VPH específico presente.

Precaución: La ley federal restringe este dispositivo para su venta por o por la orden de un médico. Los especímenes cervicales que pueden probarse con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 incluyen los siguientes:

- Especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2
- Biopsias recolectadas en medio de transporte de especímenes *digene* (STM, por su abreviatura en inglés)
- Especímenes recolectados usando un dispositivo de recolección de tipo escuela y colocados en solución *HOLOGIC Presence*[®] (utilízase a las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras «*digene* HC2 Sample Conversion Kit para detalles completos).

Se indica el uso de esta prueba:

1. Para tamizar pacientes con resultados de Papanicolaou de ASC-US (células escamosas atípicas de significancia indeterminada) para determinar la necesidad de referir a colposcopia. No se indican los resultados de esta prueba para prevenir a las mujeres de proceder a colposcopia.
2. En mujeres de 30 años de edad y mayores, puede usarse la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con Papanicolaou para tamizar adyuvantemente para valorar la presencia o ausencia de tipos de VPH de alto riesgo. Puede usarse esta información, junto con la valoración del médico de la historia de citología, otros factores de riesgo y lineamientos profesionales, para guiar el control de las pacientes.

ALERTA

- La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 no está indicada para su uso como un dispositivo de tamizaje para mujeres normales con Papanicolaou menores a 30 años de edad y no está indicada para sustituir el tamizaje de Papanicolaou regular.
- Hay insuficiente evidencia para indicar si un resultado de Papanicolaou VNI único con resultado de VPH de alto riesgo negativo concurrente con el riesgo bajo similar a resultados de Papanicolaou de VNI, técnicamente adecuados y consecutivos anuales.
- La detección del VPH usando la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 no diferencia los tipos de VPH o la infección con más de un tipo y no puede evaluar la persistencia de ningún tipo.
- No se ha evaluado el uso de esta prueba para el control de mujeres con anomalías de citología o histológicas previas, histopatología, que son postmenopausadas, o que tienen otros factores de riesgo (Vg. VIH+, inmunocomprometidas, exposición a DES, historia de STI).

La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 está diseñada para aumentar los métodos existentes para la detección de enfermedad cervical y deberá usarse en conjunción con información clínica derivada de otras pruebas de diagnóstico y de tamizaje, exámenes físicos e historia médica completa de conformidad con los procedimientos de control de pacientes apropiados.

No deberán usarse los resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como la única base para valoración clínica y tratamiento de paciente.

Crito kit de VPH QIAAGEN, la prueba de ADN del VPH «*digene* HC2 HPV DNA Test» (REF 5198-1220), la cual detecta tanto algunos tipos de VPH de alto riesgo como de bajo riesgo, no deberá usarse como un adyuvante para el tamizaje porque no se asocian los tipos de bajo riesgo al riesgo de cáncer cervical. Solamente deberá usarse la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como un adyuvante para el tamizaje.

Para las muestras de producción de muestras de alto volumen, puede realizarse la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-1220] (kit de una placa) usando la adaptación del instrumental del sistema Rapid Capture[®] (RC2, por su abreviatura en inglés). La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-00016 (kit de cuatro placas)] para su uso con pruebas de alto volumen en el sistema Rapid Capture[®] no puede usarse para pruebas manuales.

No se incluye una prueba Papanicolaou y los materiales de pruebas asociados en el kit de prueba y debe obtenerse de forma separada.

RESUMEN Y EXPLICACION

En mujeres, los virus del papiloma humano VPH pueden infectar la cervix, vagina, vulva, uretra o el área alrededor del ano. Se han identificado más de 70 tipos de VPH y se clasifican generalmente como alto riesgo o bajo riesgo dependiendo de su asociación con el desarrollo del cáncer y su lesión precursora, neoplasia intraepitelial cervical de alto grado (NIC 2-3). Se asocia la presencia de ciertos tipos de VPH en el tracto genital femenino con varias enfermedades, ^{1,2} incluyendo neoplasia intraepitelial cervical, vaginal y de vulva y cáncer. ³ Se acepta generalmente que se transmiten sexualmente de manera predominantemente estos virus y que los tipos de alto riesgo son un factor de riesgo reconocido mayor para el desarrollo de cáncer cervical. ^{4,5} Puede asociarse la infección de la cervix con tipos de VPH de alto riesgo a cambios citológicos e histológicos que son detectados por el tamizaje de Papanicolaou, colposcopia o biopsia. Sin embargo, no se comprende completamente la historia natural de cómo la infección por VPH progresa a cáncer. Se han asociado los tipos de VPH 6 y 11 de bajo riesgo con la presencia de verrugas genitales, o condilomas, pero se han ligado, influenciando con cambios cervicales precancerosos o cancerosos. Hay muchos otros tipos de VPH de bajo riesgo que no se asocian a verrugas genitales o cáncer cervical. ^{6,7}

Los virus del papiloma humano se componen de una partícula viral capsodrial (virión) que contiene una molécula de ADN circular de doble cadena base rodeada de una cápside proteica. Después de la infección de células epiteliales, el ADN viral se establece a través de todo el grosor del epitelio, pero se encuentran viriones intactos solamente en las capas superiores del tejido. Así, puede encontrarse el ADN viral ya sea en viriones o como secuencias de VPH episomales o integradas, dependiendo del tipo y grado de lesión.

A la fecha, no puede cultivarse el VPH *in vitro* y las pruebas inmunológicas son inadecuadas para determinar la presencia de infección por VPH cervical. Puede obtenerse la evidencia indirecta de infección por VPH anogenital a través de examen físico y por la presencia de cambios celulares característicos asociados a la replicación viral en prueba de Papanicolaou o especímenes de biopsias. De manera alternativa, las biopsias pueden ser analizadas por hibridación de ácidos nucleicos para detectar directamente la presencia de ADN de VPH.

Históricamente, se han considerado los VPH 16 y 18 como tipos de VPH asociados de cáncer de alto riesgo. ^{8,9} Se ha demostrado que los tipos de VPH 31, 33 y 35 tienen una asociación intermedia al cáncer. ^{1,11} Esta asociación intermedia se debe al hecho de que estos tipos se detectan más frecuentemente en NIC 2-3 que en cánceres. Por lo tanto, los cánceres asociados a la presencia de estos tipos son menos comunes que los cánceres que se asocian a los tipos de ADN de VPH de alto riesgo 16 y 18. ¹² Estos cinco tipos de VPH conjuntamente representan alrededor del 80% de cánceres cervicales. ^{13,14} Se han identificado tipos adicionales de ADN de VPH de riesgo alto e intermedio, incluyendo los tipos 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66, como los VPH principales detectables en los cánceres remanentes. ^{2,15,16}

La infección por VPH es común en adultos que han tenido más de una pareja sexual (o una sola pareja que ha tenido múltiples parejas) y puede persistir por años sin síntomas. La infección con algunos tipos de VPH es un factor importante de riesgo de cáncer cervical, sin embargo, la mayoría de las mujeres con infección por VPH no desarrollan cáncer cervical o NIC 2-3 y las infecciones se resuelven. La mayoría de las infecciones causada por virus citológicos leves que se resuelve. Se ha demostrado que el ADN del VPH está presente en aproximadamente el 10% de las mujeres con epitelio cervical normal, pero la prevalencia varía en grupos específicos de mujeres en función de la edad y otras variables demográficas. ^{17,18} Estudios prospectivos (edad 16-80 años) han demostrado que el 15-28% de las mujeres ADN de VPH positivas desarrollan lesiones intraepiteliales escamosas (SIL), por su abreviatura en inglés) sugestivas de NIC 1-3. ¹⁹ En primer lugar, fue mayor en comparación con solamente el 1-3% de mujeres ADN de VPH negativas. ^{20,21} En otros tipos, fue mayor el riesgo de progresión para los tipos de VPH 16 y 18 (aproximadamente el 40%) que para otros tipos de VPH. ^{4,6,19,20,24} La mayoría de las SIL fue de grado bajo.

Muy pocas mujeres ADN de VPH positivas desarrollan SIL de alto grado citológicas (HSIL, por su abreviatura en inglés) indicando NIC 2-3, su equivalente o cáncer. ²⁵ El riesgo absoluto de desarrollar una anomalía citológica del incidente disminuye de una infección por VPH con los tipos detectados por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 no se ha descrito adecuadamente y se sabe que varía en poblaciones distintas. ²⁶

Aunque la literatura científica actual sugiere que la infección persistente con VPH de alto riesgo es el factor de riesgo principal para el desarrollo de neoplasia cervical de alto grado y cáncer. ^{2,4,5,10,24,25,27} La persistencia aparente puede representar una infección continua con un tipo único de VPH, con múltiples tipos de VPH, o

MARISOL MASINO
BIODIAGNOSTICA S.A.S. N.º 9483
DT - TECNOLOGIAS S.A.

reinfección. No obstante, parece que las mujeres que son repetidamente Papanicolaou negativas y VPH de alto riesgo negativos se encuentran bajo riesgo de tener o desarrollar lesiones precancerosas cervicales.^{5, 24}

Un resultado negativo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con un resultado de Papanicolaou normal concurrente implica un riesgo bajo en un punto en el tiempo único para el desarrollo de neoplasia cervical y es, por lo tanto, clínicamente significativo para valorar el riesgo; no obstante, hay datos insuficientes para establecer un período definitivo durante el cual, este riesgo más bajo es clínicamente relevante.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2, que usa la tecnología Hybrid Capture 2, es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos con amplificación de señales que utiliza la detección de quimioluminiscencia de microplacas. Los especímenes que contienen el ADN blanco se hibridan con un cóctel de sondas de ARN del VPH específico. Se capturan los híbridos ARN:ADN resultantes en la superficie de un micropozo cubierta con anticuerpos específicos para los híbridos ARN:ADN. Se reaccionan entonces los híbridos inmovilizados con anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina específicos para los híbridos ARN:ADN y detectados con un sustrato quimioluminiscente. Se conjugan varias moléculas de fosfatasa alcalina a cada anticuerpo. Se unen los múltiples anticuerpos conjugados a cada híbrido capturado, dando como resultado una amplificación de señales sustancial. Conforme el sustrato es segmentado por la fosfatasa alcalina unida, se emite luz que se mide como unidades relativas de luz (URL) en un luminómetro. La intensidad de la luz emitida denota la presencia o ausencia de ADN blanco en el espécimen.

Una medición de URL igual o mayor al valor de corte (CO, por su abreviatura en inglés) indica la presencia de secuencias de ADN de VPH de alto riesgo en el espécimen. Una medición de URL menor al valor de corte indica la ausencia de las secuencias específicas de ADN de VPH de alto riesgo probadas o niveles de ADN del VPH por debajo del límite de detección del ensayo.



3145

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO PROPORCIONADO

	REF 5199-1220 (kit de 1 placa)	REF 5199-00016 (kit de 4 placas)
Número de pruebas	96 pruebas en un kit. Variará el número de resultados de la paciente, dependiendo del número de usos por kit: 1 uso = resultados de 88 pacientes 2 usos = resultados de 80 pacientes 3 usos = resultados de 72 pacientes 4 usos = resultados de 64 pacientes	384 pruebas en un kit. Este kit está diseñado para el uso en alto volumen del sistema Rapid Capture solamente y <u>debe consumirse en ≤ 2 corridas del sistema Rapid Capture</u> para obtener las 384 pruebas completas.
Colorante indicador Contiene azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 0.35 mL	1 x 2.0 mL
Reactivo de desnaturalización* Diluya la solución de hidróxido de sodio (NaOH).	1 x 50 mL	2 x 100 mL
Diluyente de la sonda* Solución amortiguada con azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 5 mL	1 x 20 mL
Sonda de VPH de alto riesgo Cóctel de sondas de ARN 16/18/31/33/35/39/45/51/52/58/59/68 de VPH en solución amortiguada (tapa roja).	1 x 200 µL	3 x 200 µL
Control de calidad del VPH de bajo riesgo* 5 pg/mL (500 000 copias/mL) de ADN de VPH 6 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v). El control de calidad del VPH de bajo riesgo funciona como un calibrador negativo adicional en este ensayo.	1 x 1 mL	1 x 1 mL
Control de calidad del VPH de alto riesgo* 5 pg/mL (500 000 copias/mL) de ADN de VPH 16 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 1 mL	1 x 1 mL
Calibrador negativo* ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 2 mL	1 x 2 mL
Calibrador de VPH de alto riesgo* 1 pg/mL de ADN de VPH 16 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 1 mL	1 x 2 mL
Microplaca de captura Cubierta con anticuerpos híbridos anti-ARN:ADN policlonales cabrios.	1 cada una	4 cada una
Reactivo de detección 1 Anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina a híbridos ARN:ADN en solución amortiguada con azida de sodio al 0.05% (w/v).	1 x 12 mL	1 x 40 mL
Reactivo de detección 2 CDP-Star® con Emerald II (sustrato quimioluminiscente).	1 x 12 mL	1 x 40 mL
Concentrado de solución amortiguadora de lavado* Contiene azida de sodio al 1.5% (w/v).	1 x 100 mL	2 x 100 mL

*Véase la sección *Alertas y precauciones* de este inserto para información de salud e inocuidad.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA M.N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

MATERIALES REQUERIDOS MAS NO SUMINISTRADOS

- Equipo y accesorios de diagnóstico *in vitro* del sistema Hybrid Capture^A**
 Sistema *digene* Hybrid Capture 2 («sistema *digene* HC2»), consistente en un luminómetro aprobado por QIAGEN («luminómetro»), computadora personal y periféricos de la computadora aprobados por QIAGEN (monitor, teclado, ratón, impresora y cable de impresora), software del sistema *digene* HC2 («software de análisis del ensayo *digene*»), protocolos del ensayo del sistema *digene* HC2 para VPH, software para placas LumiCheck y guía del usuario del sistema *digene* Hybrid Capture 2; o el equipo listado anteriormente con el software cualitativo *digene* versión 1.3 ó anterior («software de análisis del ensayo *digene*») y el manual de usuario del software cualitativo *digene*
- Agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture
 Calentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture
 Lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture
 Tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2
 Gradilla de conversión y tapa de gradilla (se requiere cuando se usa el sistema Rapid Capture con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 y los especímenes PreservCyt)
 Gradilla de especímenes y tapa de gradilla *digene* (se requiere cuando se usa el sistema Rapid Capture con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 y los especímenes *digene* HC2 recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2)
 Dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2
 Dosificador del sellador de tubos y dispositivo de corte (usados con el MST Vortexer 2)
 Sistema Rapid Capture - opcional para pruebas de producción de muestras de alto volumen con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-1220 (kit de 1 placa)] requerida para su uso con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-00016 (kit de 4 placas)]^B
- Aparato de lavado
 Microplacas de hibridación
 Tapas de microplacas
 Tiras de microplacas vacías (disponibles de Costar, modelo #2581); opcionales para su uso con el lavador de placas automatizado
 Puntas de pipetas extratargas para la remoción de espécimen
 Tubos de recolección de especímenes
 Gradilla de tubos de recolección de especímenes
 Gradilla de tubos de especímenes
 Tapa rosca de tubos de recolección de especímenes
 Reservorios de reactivos desechables
 Película selladora de tubos DuraSeal^D
 Microtubos de hibridación^C
 Gradillas de microtubos^C
 Selladores de placas^C
- Equipo y accesorios de uso de laboratorio general (sistema manual)**
- Baño maría a 65 ± 2° C de suficiente tamaño para soportar ya sea una gradilla MST Vortexer 2 (35 x 21 x 9 cm) o dos gradillas de especímenes (cada uno de 31.7 x 15.2 x 6.4 cm)
 Microcentrifuga (opcional para centrifugar viales de sonda para obtener un volumen máximo de sonda)
 Mezcladora de vórtice con accesorio de copa
 Micropipeta de un solo canal, configuraciones variables para volúmenes de 20-200 µL
 Pipeta de desplazamiento positivo repetida, como la pipeta Eppendorf® Repeater[®] o equivalente
 Pipeta de 8 canales: configuraciones variables para volúmenes de 25-200 µL
 Temporizador
 Solución de hipoclorito de sodio, concentración final del 0.5%
 Parafilm[®] o equivalente
 Puntas de pipetas de barrera de aerosol desechables para pipeta de un solo canal (20 a 200 µL)
 Puntas desechables para pipeta Eppendorf Repeater (25 y 500 µL)
 Puntas desechables para pipeta de 8 canales (25 a 200 µL)
 Toallas Kimtowels[®] o toallas de papel con poca pelusa equivalentes
 Protector contra picos de tensión eléctrica
 Cubierta para mesa de trabajo desechable
 Guantes libres de polvo
 Tapa a presión de 5 mL y/o 15 mL, tubos de polipropileno de fondo redondo (para dilución de la sonda)
 Pipeta serológica desechable o pipeta de un solo canal y puntas capaces de volumen de 1000 µL (para el diluyente de sonda y procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt)

[Handwritten signature]

Equipo y accesorios de procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt

Kit de conversión de muestras *digene* HC2^A (para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt)

Centrífuga de cubetas oscilantes capaces de alcanzar 2900 ± 150 x g y soportar tubos de centrifuga de polipropileno cónicas de 10 mL ó 15 mL

Tubos cónicos de 10 mL Sarstedt[®] con tapas (REF 62 9924-283) ó VWR o tubos de centrifuga de polipropileno de fondo cónico de 15 mL marca Corning con tapas (para su uso con el procedimiento Vortexer 2 de tubos para especímenes múltiples)

Puntas desechables para pipeta Eppendorf Repeater (50 y 100 µL)

^A Solamente están disponibles de QIAGEN equipo y accesorios validados con las pruebas de ADN del VPH *digene* HC2 HPV DNA Tests.

^B Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* para las instrucciones específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen con este ensayo.

^C Se usan estos artículos para el método de baño maría solamente y no se requieren cuando se usa el método de hibridación de calentador de microplacas I.

ALERTAS Y PRECAUCIONES

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. MANEJE TODOS LOS ESPECÍMENES DEL ENSAYO Y LOS MATERIALES DISPENSADOS COMO SI FUESEN CAPACES DE TRANSMITIR AGENTES INFECCIOSOS. Deberán manejarse los especímenes de las pacientes en el nivel BSL 2 como es recomendado para cualquier suero humano o espécimen sanguíneo potencialmente infeccioso en el manual CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 3ª edición, 1993, pp. 10 – 13 y el lineamiento M29-A aprobado por Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio/NCCLS, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*.
2. No pipetee por la boca.
3. No fume, coma o tome en áreas donde se manejen reactivos o especímenes.
4. Use guantes libres de polvo desechables mientras maneje reactivos o especímenes. Lávese las manos completamente después de realizar la prueba.
5. Deberán eliminarse todos los materiales usados en este ensayo, incluyendo los reactivos y especímenes, de una manera que inactiven los agentes infecciosos de conformidad con la normatividad nacional y local.
Residuos líquidos: agregue hipoclorito de sodio a una concentración final del 0.5% (dilución 1:10 de blanqueador doméstico). Deje 30 minutos para su descontaminación antes de su eliminación.^{34, 35}
Residuos sólidos: autoclave.
6. DERRAMES: limpie y desinfecte todos los derrames de los especímenes usando un desinfectante tuberculocidal, como hipoclorito de sodio al 0.5%, u otro desinfectante idóneo. Deberán neutralizarse y secarse con trapo los derrames que contengan base y posteriormente deberán limpiarse las áreas de derrame con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%.
7. Deberá cubrirse el área limpiada con material absorbente, saturado con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% y dejarse reposar durante por lo menos 10 minutos. Puede usarse una cubierta o bandeja de vidrio o de plástico para reducir la exposición a los humos.
8. Trate todos los materiales de limpieza como residuo nocivo y elimínelos de conformidad con la normatividad nacional y local.

PRUEBAS AUTOMATIZADAS POR RCS

Remítase al *Manual de usuario del sistema Rapid Capture* para alertas y precauciones adicionales específicas para el uso de ese sistema para las pruebas de producción de muestras de alto volumen.

DECLARACIONES DE SEGURIDAD Y RIESGOS PARA LOS COMPONENTES

Se aplican las siguientes frases de riesgos y de seguridad a los componentes del kit de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2:

Concentrado de solución amortiguadora de lavado

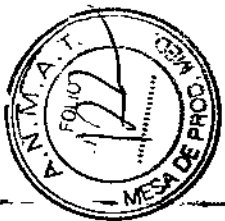


Contiene: azida de sodio. ¡Alerta! Dañina si se ingiere. Dañina para la vida acuática con efectos de larga duración. Evite su liberación al medioambiente. Disponga el contenido/contenedor a una planta de disposición de residuos aprobada.

Reactivo de desnaturalización



Contiene: hidróxido de sodio. ¡Peligro! Causa quemaduras cutáneas y daños a los ojos severos. Puede ser corrosivo a los metales. Disponga el contenido/contenedor a una planta de disposición de residuos aprobada. SI ESTÁ EN LOS OJOS: enjuague precautamente con agua por varios minutos. Quitese las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacerlo. Continúe enjuagando. SI ESTÁ EN LA PIEL (o cabello): quítase inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuáguese la piel con agua/en regadera. Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o doctor/médico. Almacénelo con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para ojos/protección para el rostro.



Diluyente de la sonda



Contiene: ácido acético; ácido poliacrílico. ¡Peligro! Causa quemaduras cutáneas y daños a los ojos severos. Disponga el contenido/contenedor a una planta de disposición de residuos aprobada. SI ESTÁ EN LOS OJOS enjuague precautoriamente con agua por varios minutos. Quite las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacerlo. Continúe enjuagando. SI ESTÁ EN LA PIEL (o cabello) quítese inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuáguese la piel con agua/en regadera. Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o doctor/médico. Almacénela con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para el rostro.

Calibrador de VPH de alto riesgo

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

Control de calidad del VPH de alto riesgo

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

Control de calidad del VPH de bajo riesgo

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

Calibrador negativo

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

MÁS INFORMACIÓN

Hojas de datos de seguridad: www.qiagen.com/safety

RECAUCIONES DE MANEJO

1. Para uso de diagnóstico *in vitro*.
2. Realizar el ensayo fuera del tiempo y rangos de temperatura establecidos puede producir resultados inválidos. Deben repetirse los ensayos que no caigan dentro del tiempo y rangos de temperatura establecidos.
3. No use los reactivos más allá de la fecha de caducidad en el marbete de la caja externa.
4. Deben seguirse de manera cercana el procedimiento, los controles de calidad, los criterios de calibración y verificación del ensayo y la interpretación de los resultados de los especímenes de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para obtener resultados de prueba confiables.
5. Es importante pipetear el volumen de reactivo exacto indicado y mezclar bien después de cada adición de reactivo. No hacerlo podría dar como resultado resultados de prueba erróneos. Asegurarse de que ocurran los cambios de color notados ayudará a confirmar que se han cumplido estas condiciones.
6. Con excepción de la solución amortiguadora de lavado, estos componentes son específicos del lote y se han probado como una unidad. No intercambie componentes de otras fuentes o de distintos lotes.
7. Los ácidos nucleicos son muy sensibles a la degradación de nucleasa medioambiental. Las nucleasas están presentes en la piel humana o en superficies o materiales manejados por los humanos. Limpie y cubra las superficies de trabajo con cojinetes desechables y use guantes libres de polvo cuando realice todas las etapas del ensayo.
8. Deberá tenerse cuidado para evitar la contaminación de la microplaca de captura y el reactivo de detección 2 con fosfatasa alcalina exógena durante la realización del ensayo. Las sustancias que pueden contener fosfatasa alcalina incluyen el reactivo de detección 1, bacterias, saliva, cabello y grasas de la piel. Es especialmente importante cubrir la microplaca de captura después de la etapa de lavado y durante la incubación del reactivo de detección 2, ya que la fosfatasa alcalina exógena puede reaccionar con el reactivo de detección 2 produciendo resultados falsos positivos.
9. Proteja el reactivo de detección 2 de la exposición prolongada a la luz directa. Use reactivo inmediatamente después de dividir en partes alícuotas y evite la luz solar directa.
10. Deberá tenerse cuidado de entregar los volúmenes correctos de reactivos a los tubos de reacción y microplacas en todas las etapas y de mezclar bien después de cada adición de reactivo. Deberá iniciarse la pipeta repetidora por anticipado de suministro de reactivo y verificarse las burbujas de aire grandes periódicamente. Cantidades excesivas de burbujas de aire grandes en la punta de la pipeta repetidora pueden causar una entrega inexacta y pueden evitarse llenando la pipeta, dispensando todo el líquido y volviendo a llenar. Véanse los manuales de instrucciones de la pipeta para instrucciones de uso específicas.

11. Deberá realizarse el pipeteado de canales múltiples usando la técnica de pipeteado reversa para dispensar los reactivos de detección 1 y 2.
12. Verifique cada punta de pipeta en la pipeta de canales múltiples para un ajuste y llenado apropiados. Remítase al manual del operador de pipetas de canales múltiples del fabricante.
13. Deberá tenerse cuidado durante el lavado para asegurarse de que se lava completamente cada micropozo, como es indicado en las instrucciones de lavado manual. Un lavado inadecuado dará como resultado un fondo incrementado y puede causar resultados falsos positivos. La solución amortiguadora del lavado residual en los pozos puede dar como resultado una señal reducida o una pobre reproducibilidad.
14. El cepillo cervical es para su uso con mujeres no embarazadas solamente.
15. Deje que se equilibre 60 minutos el calentador de microplacas I a $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ desde un comienzo frío. No permitir este período de calentamiento podría dar como resultado el derretimiento de las microplacas de hibridación. Consulte el Manual del operador del calentador de microplacas I para detalles.

PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

1. Contra entrega, almacene el kit a 2-8° C. Pueden almacenarse el concentrado de solución amortiguadora de lavado, el reactivo de desnaturalización y el colorante indicador a 15-30° C, si se desea.
2. No se use después de la fecha de caducidad impresa en el marbete de la caja externa, o la fecha de caducidad de los reactivos preparados (véase más adelante).
3. Se proporcionan kits para usarse todos los reactivos, excepto el reactivo de desnaturalización, la sonda de VPH de alto riesgo y la solución amortiguadora de lavado.

Quando use el sistema Rapid Capture, remítase a la Guía de usuario del sistema Rapid Capture para la preparación de los reactivos de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo dígene HCZ para los kits de 1 ó 4 placas, como sea apropiado.

Debe usarse REF 5199-00016 (kit de 4 placas) con el sistema Rapid Capture; son insuficientes los volúmenes de reactivo para este kit para correr el procedimiento manual.

<p>Reactivo de desnaturalización</p>	<p>Método de preparación: PREPARE PRIMERO:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agregue 5 gotas de colorante indicador a la botella de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente. El reactivo de desnaturalización deberá ser de un color púrpura oscuro uniforme. <p>Una vez preparado, el reactivo de desnaturalización está estable por 3 meses cuando se almacena a 2-8° C. Etiquétele con la fecha de caducidad nueva. Si se desvanece el color, añada 3 gotas de colorante indicador y mezcle completamente antes de su uso.</p> <p>Alerta: el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Use ropa protectora, guantes, protección para los ojos/rostro/bóneos. Tenga cuidado cuando quite la tapa de la botella y durante su manipulación.</p>
---	---

Mezcla de la sonda de VPH de alto riesgo (preparada de la sonda de VPH de alto riesgo y el diluyente de los reactivos de la sonda)

PREPÁRESE DURANTE LA INCUBACIÓN DE DESNATURALIZACIÓN DE ESPECÍMENES:

IMPORTANTE: ALCUNAS OCASIONES LA SONDA SE QUEDA ATRAPADA EN LA TAPA DEL VIAL.

Nota: debe hacerse fresca la mezcla de sondas antes de realizar la comba de cada ensayo. Deberá tenerse mucho cuidado en esta etapa para prevenir la contaminación de RNAsa de la mezcla de sondas. Use puntas de pipeta con barrera de aerosol para pipetear la sonda. El diluyente de la sonda es viscoso.

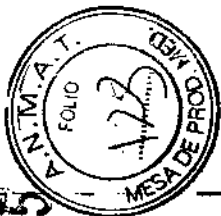
Deberá tenerse cuidado para asegurar una mezcla completa cuando se prepare la sonda de VPH de alto riesgo. Debe formarse un vórtice visible en el líquido durante la etapa de mezcla. Una mezcla incompleta puede dar como resultado una señal reducida.

- Centrifugue el vial de la sonda de VPH de alto riesgo brevemente para llevar el líquido al fondo del vial. Golpees suavemente para mezclar.
- Determine la cantidad de mezcla de sondas requerida (25 µL/prueba). Se recomienda que se haga la mezcla de sondas extra para representar el volumen que puede perderse en las puntas de pipeta o en el costado del vial. Remítase a los volúmenes sugeridos listados a continuación. El número más pequeño de pozos recomendado para cada uso es 24. Si se desean menos de 24 pozos por ensayo, puede reducirse el número total de pruebas por kit debido a los volúmenes limitados de la sonda y del diluyente de la sonda.
- Pase la cantidad requerida de diluyente de la sonda a un contenedor desechable nuevo. Dependiendo del número de pruebas, se recomienda ya sea un tubo de polipropileno de fondo redondo con tapa a presión de 5 mL ó 15 mL. Haga una dilución 1:25 de la sonda de VPH de alto riesgo en el diluyente de la sonda para preparar la mezcla de sondas.

No. de pruebas/trazas	Volumen del diluyente de la sonda*	Volumen de la sonda*
96/12	4.0 mL	180 µL
72/9	3.0 mL	120 µL
48/6	2.0 mL	80 µL
24/3	1.0 mL	40 µL
1 prueba	0.045 mL	1.8 µL

* Estos valores incluyen el volumen extra recomendado.

- Pipetee la sonda de VPH de alto riesgo en el diluyente de la sonda colocando la punta de pipeta contra la pared interna del tubo justo por encima del menisco y expulsando el contenido. No sumerja la punta en el diluyente de la sonda.
- Pase por vórtices durante por lo menos 5 segundos a velocidad máxima para mezclar completamente. Debe producirse un vórtice visible. Etiquete como «Cobici de sondas de VPH de alto riesgo». Deberá desascharse la mezcla de sondas no usada.



3175

Reactivo	Método de preparación												
Solución amortiguadora de lavado	<p>PREPÁRESE DURANTE LA ETAPA DE CAPTURA:</p> <p>Para el lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture, puede prepararse la solución amortiguadora de lavado como se describe a continuación y almacenarse en un contenedor cubierto, o prepararse 1 L a la vez y colocarse en los reservorios del lavador de placas automatizado. Véase la tabla a continuación para los volúmenes de mezcla:</p> <p>Alerta: es tóxico el concentrado de solución amortiguadora de lavado por ingesta. Use ropa protectora, guantes, protección para los ojos/el rostro idóneos. Para minimizar la exposición, adicione agua al concentrado de solución amortiguadora de lavado cuando se prepare.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Cantidad de concentrado de solución amortiguadora de lavado</th> <th>Cantidad de agua destilada o desionizada</th> <th>Volumen final de solución amortiguadora de lavado</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>33.3 mL</td> <td>966.7 mL</td> <td>1 L</td> </tr> <tr> <td>66.7 mL</td> <td>1,933.3 mL</td> <td>2 L</td> </tr> <tr> <td>100.0 mL</td> <td>2,900.0 mL</td> <td>3 L</td> </tr> </tbody> </table> <p>Es importante siempre dejar prendida la unidad en todo momento. Esto permite que se realice el enjuague de mantenimiento después de ocho horas de inactividad.</p> <p>Antes de cada ensayo, asegúrese de que el reservorio de residuos esté vacío y de que el reservorio de enjuague esté lleno de agua desionizada.</p> <p>Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para instrucciones adicionales de <i>Cuidado y mantenimiento</i>.</p> <p>Método alternativo del lavado manual de placas:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mezcle bien el concentrado de solución amortiguadora de lavado. Diluya 100 mL de concentrado de solución amortiguadora de lavado con 2.9 L de agua destilada o desionizada en el aparato de lavado y mezcle bien (el volumen final deberá ser de 3 L). Selle el contenedor para prevenir la contaminación o evaporación. <p>Una vez preparada, la solución amortiguadora de lavado está estable por tres meses a 2-25° C. Etiquétela con la fecha de caducidad nueva. Si se ha refrigerado la solución amortiguadora de lavado, equilibre a 20-25° C antes de su uso.</p> <p>Se recomienda que se limpie el aparato de lavado y la tubería con blanqueador y se enjuague completamente con agua destilada o desionizada una vez cada tres meses para prevenir una posible contaminación de fosfatasa alcalina presente en bacterias y mohos.</p>	Cantidad de concentrado de solución amortiguadora de lavado	Cantidad de agua destilada o desionizada	Volumen final de solución amortiguadora de lavado	33.3 mL	966.7 mL	1 L	66.7 mL	1,933.3 mL	2 L	100.0 mL	2,900.0 mL	3 L
Cantidad de concentrado de solución amortiguadora de lavado	Cantidad de agua destilada o desionizada	Volumen final de solución amortiguadora de lavado											
33.3 mL	966.7 mL	1 L											
66.7 mL	1,933.3 mL	2 L											
100.0 mL	2,900.0 mL	3 L											

Volúmenes para reactivos listos para usarse

Reactivo de detección 1 y reactivo de detección 2	<p>INMEDIATAMENTE ANTES DE SU USO:</p> <p>Mezcle el reactivo completamente, posteriormente mida de forma cuidadosa el volumen apropiado de reactivo de detección 1 (o reactivo de detección 2) en un reservorio de reactivo limpio siguiendo los lineamientos mostrados a continuación. Para evitar contaminación, NO DEBEN regresarse estos reactivos a las botellas originales; deseche el material no utilizado después del uso. Si no se está usando una pipeta de 8 canales, puede sustituirse una pipeta repetidora apropiada. En este caso, deberán hacerse partes alícuotas del reactivo en un tubo de polipropileno de suficiente tamaño para soportar el volumen requerido como se indica a continuación.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>No. de pruebas/tiras</th> <th>Volumen de los reactivos de detección 1 y 2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>96/12</td> <td>Contenido de la botella</td> </tr> <tr> <td>72/9</td> <td>7.0 mL</td> </tr> <tr> <td>48/6</td> <td>5.0 mL</td> </tr> <tr> <td>24/3</td> <td>3.0 mL</td> </tr> <tr> <td>1 prueba</td> <td>0.125 mL</td> </tr> </tbody> </table>	No. de pruebas/tiras	Volumen de los reactivos de detección 1 y 2	96/12	Contenido de la botella	72/9	7.0 mL	48/6	5.0 mL	24/3	3.0 mL	1 prueba	0.125 mL
No. de pruebas/tiras	Volumen de los reactivos de detección 1 y 2												
96/12	Contenido de la botella												
72/9	7.0 mL												
48/6	5.0 mL												
24/3	3.0 mL												
1 prueba	0.125 mL												

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPECÍMENES

Se listan a continuación los tipos de especímenes cervicales recomendados para su uso en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. No se han calificado para su uso con este ensayo los especímenes tomados con otros dispositivos de muestreo o transportados en otros medios de transporte. Se desconocen las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con otros tipos de especímenes y dispositivos de recolección. Deben recolectarse los especímenes cervicales antes de la aplicación de ácido acético o yodo si se está realizando un examen colposcópico. Véanse las instrucciones de uso del dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 para los procedimientos adicionales de recolección y manejo de especímenes.

CEPILLOS CERVICALES *

La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 está diseñada para su uso con especímenes recolectados y transportados usando el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 (cepillo cervical y STM). Pueden retenerse los especímenes por hasta dos semanas a temperatura ambiente y embarcarse al laboratorio de análisis, después de lo cual, pueden almacenarse los especímenes una semana adicional a 2-8° C. Si se realiza el ensayo más de 3 semanas desde la recolección, pueden ponerse los especímenes a -20° C por hasta tres meses antes del análisis. Se ha adicionado un conservador al STM para retrasar el crecimiento bacteriano y retener la integridad del ADN. **No está indicado para conservar la viabilidad de los organismos o células.** No deberá usarse el dispositivo de recolección ADN *digene* HC2 DNA Collection Device para la recolección de especímenes de mujeres embarazadas.

Tiempo antes de las pruebas	Duración de almacenamiento	Temperatura de conservación
3 semanas	Hasta 2 semanas Hasta una semana adicional	Temperatura ambiente 2-8° C
Mayor a 3 semanas	Hasta tres meses	-20° C

Pueden embarcarse los especímenes sin refrigeración a un laboratorio de análisis; sin embargo, deberán embarcarse los especímenes en un contenedor aislado usando ya sea un proveedor de entrega de un día para el otro o de 2 días.

BIOPSIAS CERVICALES *

Pueden analizarse biopsias cervicales recientemente recolectadas, de 2 a 5 mm en la sección cruzada, con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Debe colocarse el espécimen de la biopsia inmediatamente en 1.0 mL de STM y almacenarse congelado a -20° C. Pueden embarcarse los especímenes de la biopsia a 2-30° C para una entrega de un día para otro al laboratorio de análisis y conservarse a -20° C hasta que se procesen. No deberán usarse biopsias menores a 2 mm de diámetro.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA - M.N. 9483
DT-TECNO LAB S.A.

ESPECIMENES DE LA SOLUCIÓN HOLOGIC PRESERVCYT

Pueden usarse los especímenes recolectados con un dispositivo de recolección tipo escoba y puestos en solución PreservCyt para su uso en hacer los portaobjetos de la prueba de Papanicolaou HOLOGIC ThinPrep® en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Deberán recolectarse los especímenes de la manera rutinaria y deberán prepararse los portaobjetos de la prueba de Papanicolaou ThinPrep de acuerdo con las instrucciones de HOLOGIC.

Debe haber por lo menos 4 mL de solución PreservCyt remanente para la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Los especímenes que se han preparado con menos de 4 mL después de la prueba de Papanicolaou ThinPrep pueden contener material insuficiente y podrían ser falsamente negativos con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.

Pueden retenerse los especímenes de la solución PreservCyt por hasta tres meses a temperaturas entre 2° C y 30° C, después de la recolección y antes del procesamiento para la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. No pueden congelarse los especímenes de la solución PreservCyt. Para procesar estos especímenes, remítase a las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras «*digene* HC2 Sample Conversion Kit». Por conveniencia, también se han incluido las etapas de procesamiento de especímenes en la sección *Procedimiento de la prueba* a continuación.

***Nota:** Para evitar que salgan disparadas las tapas de los especímenes que son embarcados o almacenados congelados (para especímenes de STM o especímenes convertidos de la solución PreservCyt):

1. Cubra las tapas con Parafilm o equivalente antes de embarcar los especímenes previamente congelados. Pueden embarcarse los especímenes congelados a 20-25° C.
2. Cuando quite los especímenes del congelador para los análisis, sustituya las tapas inmediatamente con tapa rosca de tubos de recolección de especímenes.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Los especímenes pueden contener agentes infecciosos y deberán manejarse como corresponda.

Puede realizarse manualmente la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como se instruyó en estas instrucciones de uso o usando el instrumento del sistema Rapid Capture para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

PRUEBAS DE PRODUCCIÓN DE MUESTRAS DE ALTO VOLUMEN USANDO LA APLICACIÓN DEL INSTRUMENTAL RCS

El sistema Rapid Capture es un sistema de pipeteado y dilución automatizado de uso general que puede usarse con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para pruebas de producción de muestras de alto volumen. Este sistema maneja hasta 352 especímenes en ocho horas, incluyendo un periodo de 3.5 horas durante el cual no se requiere la intervención del usuario; pueden generarse resultados de hasta 704 especímenes en 13 horas. Se realiza la desnaturalización de los especímenes en la preparación para las pruebas independientemente del RCS, en el tubo de recolección primario, como se realizó para el método manual de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 descrito más adelante, antes de colocarse en la plataforma del RCS. Además, se realizan la detección de señales quimioluminiscentes y el reporte de los resultados usando el sistema de luminómetros fuera de línea común tanto para el método manual como el del RCS. Cada una de las etapas de procedimiento de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 se realiza en la secuencia exacta como el procedimiento de pruebas manuales. La aplicación de RCS permite el procesamiento escalonado de hasta 4 microplacas, cada placa conteniendo los especímenes y los calibradores del ensayo y los controles de calidad requeridos.

Cuando use el sistema Rapid Capture, remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* proporcionada con el instrumento, además de estas instrucciones de uso, para información del procedimiento y descriptiva necesaria.

PREPARACIÓN

1. Deje que se equilibre 60 minutos el calentador de microplacas I de HCS a 65 ± 2° C desde un comienzo frío. Consulte el *Manual del operador del calentador de microplacas I* para detalles. Confirme que un baño maría esté a 65° C y que el nivel de agua esté lo suficientemente alto para sumergir todo el volumen del espécimen en los tubos de especímenes.
2. Quite los especímenes y todos los reactivos requeridos del refrigerador antes de comenzar el ensayo. Déjelos alcanzar 20-25° C durante por lo menos 15 a 30 minutos.

Nota: Prepare los especímenes de la solución PreservCyt antes de equilibrar cualquier espécimen previamente desnaturalizado y reactivo del kit a temperatura ambiente.

3. Cree una distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayos *digene* para el VPH. Véase la guía de usuario del software aplicable para detalles.
4. Ponga los calibradores, controles de calidad y especímenes a probar en una gradilla de tubos de ensayo, en el mismo orden en el que se probarán. Deben probarse PRIMERO el calibrador negativo y el calibrador de VPH de alto riesgo. Deberán probarse el calibrador negativo (NC), el calibrador de VPH de alto riesgo (HRC), el control de calidad del VPH de bajo riesgo (QC1-LR), el control de calidad del VPH de alto riesgo (QC2-HR) y los especímenes en una configuración de columnas de 8 micropozos. Véase *Distribución de ejemplo* a continuación.

DISTRIBUCIÓN DE EJEMPLO PARA UNA PRUEBA QUE USA 24 MICROPZOZOS:

Fila	Columna		
	1	2	3
A	NC	Espec. 1	Espec. 9
B	NC	Espec. 2	Espec. 10
C	NC	Espec. 3	Espec. 11
D	HRC	Espec. 4	Espec. 12
E	HRC	Espec. 5	Espec. 13
F	HRC	Espec. 6	Espec. 14
G	QC1-LR	Espec. 7	Espec. 15
H	QC2-HR	Espec. 8	Espec. 16



3145

- Se prueban el NC y el HRC por triplicado con el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo. El software de análisis de ensayos *digene* determina las posiciones del calibrador y del control de calidad en la microplaca. Véase la guía de usuario del software de análisis de ensayos *digene* aplicable para la preparación del calibrador/control de calidad/especimen en el software.

DES NATURALIZACIÓN

Notas:

- Precaución:** el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Tenga cuidado y use guantes libres de polvo cuando se manipule.
- Importante:** algunos especímenes cervicales pueden contener sangre u otro material biológico, los cuales pueden ocultar los cambios de color en la adición del reactivo de desnaturalización. Los especímenes que muestran un color oscuro antes de la adición de reactivo de desnaturalización pueden no dar los cambios apropiados de color en esta etapa. En este caso, no mostrar el cambio apropiado de color no afectará los resultados del ensayo.
- No quite el dispositivo de recolección de especímenes *digene* HC2 previo a la desnaturalización.
- Durante la etapa de desnaturalización, asegúrese de que el nivel de agua en el baño maría sea adecuado para sumergir todo el volumen del espécimen en el tubo.
- Pueden prepararse los calibradores, controles de calidad y especímenes hasta la etapa de desnaturalización y almacenarse a 2-8° C de un día para otro, o a -20° C por hasta 3 meses. Puede realizarse un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación con un máximo de 2 horas a temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelación. Mezcle bien antes de su uso.
- Para evitar resultados falsos positivos, es crítico que todo el material del calibrador, control de calidad y del espécimen se ponga en contacto con el reactivo de desnaturalización. La mezcla después de la adición del reactivo de desnaturalización es una etapa crítica: si se usa el tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2, asegúrese de que esté puesto en 100 (máxima velocidad) y se observe un vórtice visible de líquido durante la mezcla de tal forma que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Si se realiza un vórtice manual, asegúrese de que sea mezclado cada calibrador, control de calidad y espécimen de forma individual haciendo vórtice de cada uno durante por lo menos 5 segundos a máxima velocidad de tal forma que el vórtice del líquido lave toda la superficie interna del tubo, seguido de la inversión del tubo una vez.
- Después de la desnaturalización e incubación, ya no se consideran infecciosos los especímenes. ³⁶ No obstante, el personal de laboratorio aún deberá acatar las precauciones universales prácticas.

STM de calibradores, controles de calidad y especímenes (incluyendo los especímenes de la biopsia del dispositivo de recolección de ADN «digene HC2 DNA Collection Devices»)

Nota: Este procedimiento no es para la preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt.

- Quite y deseche las tapas del calibrador, controles de calidad y tubos de especímenes.
- Pipeteo el reactivo de desnaturalización con colorante indicador en cada calibrador, control de calidad o espécimen usando una pipeta repetidora o ajustable. Tenga cuidado de no tocar los costados del tubo o podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes. El volumen del reactivo de desnaturalización necesario es equivalente a la mitad del volumen de espécimen. Se lista el volumen exacto para cada tipo de calibrador, control de calidad y espécimen en la tabla a continuación.

Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* cuando use la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-00016 (kit de 4 placas)]

Calibrador, control de calidad o espécimen	Vol. del reactivo de desnaturalización requerido
Calibrador negativo	1000 µL
Calibrador de VPH de alto riesgo	500 µL**
Controles de calidad de bajo riesgo o alto riesgo	500 µL*
Especimen cervical	500 µL*

* Si usa una pipeta repetidora Eppendorf, use una punta de 12.5 mL y una configuración de pipeta de 2.

** 1000 µL para la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-00016 (kit de 4 placas)].

- Diluya el reactivo de desnaturalización remanente en la botella antes de su disposición. Elimine de conformidad con la normatividad local, estatal y federal.

- Mezcle los especímenes usando uno de los dos métodos a continuación

Método de vórtice de tubos manual (individual)

- Vuelva a poner la tapa de los calibradores, controles de calidad y tubos de especímenes con tapa roscas de tubos de recolección de especímenes limpias.
- Mezcle cada tubo completamente haciendo vórtice de manera individual, a alta velocidad, por 5 segundos.
- Invierta el tubo de espécimen una vez para lavar el interior del tubo, ponga la tapa y bordee.
- Regrese el tubo a la gradilla.
- Incube en un baño maría a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos (pueden probarse los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados inmediatamente, o almacenarse como se describe en las *Notas* anteriores). Prepare el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo durante esta incubación. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
- Quite la gradilla del baño maría.
- Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de para opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

Método del tubo de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2

Nota: Deben hibridarse los especímenes de QIAGEN mezclados usando el MST Vortexer 2 usando la microplaca de hibridación y el método de calentador de microplacas I. Véase el manual del operador del MST Vortexer 2 para más instrucciones, como sea necesario.

- Cubra el calibrador/control de calidad/tubos de especímenes con la película selladora de tubos DuraSeal jalando la película sobre los tubos en la gradilla.
- Coloque la tapa de la gradilla sobre los tubos cubiertos de película y asegure la tapa en su lugar con las dos abrazaderas laterales. Corte la película con el cúter después de que se apriete de manera segura la tapa.
- Mueva la palanca con mango rojo hacia arriba para que esté en una posición horizontal.
- Ponga el MST o gradilla de especímenes *digene* y la tapa en el MST Vortexer 2 para que la esquina con muesca más grande de la gradilla se ubique en la esquina frontal derecha. Posicione la gradilla y la tapa en la plataforma del MST Vortexer 2 para que se ajuste de forma segura dentro de las guías. Asegure la gradilla en su lugar moviendo la palanca con mango rojo hacia abajo a la posición vertical. Esto asegurará la gradilla en su lugar.
- Verifique que la configuración de la velocidad esté en 100 (máxima velocidad) y que el botón Pulser se encuentre en la posición OFF (apagado).
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido). Pase por vórtice los tubos por 10 segundos.
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado).
- Quite la gradilla del Vortexer levantando en la palanca con mango rojo.
- Incube en un baño maría a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos (pueden probarse los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados inmediatamente, o almacenarse como se describe en las *Notas* anteriores). Prepare el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo durante esta incubación. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
- Quite la gradilla del baño maría, seque la gradilla y asegúrela en el Vortexer.
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido). Pase por vórtice los tubos por 5 segundos.

- l. Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado). Quite la gradilla.
- m. Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y la película selladora de tubos DuraSeal de los especímenes.
- n. Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de paro opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

Independiente del método de vórtice utilizado, debe haber un vórtice visible de líquido dentro de cada tubo durante la mezcla de tal forma que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Deberán tornarse púrpura los calibradores, controles de calidad y especímenes.

Procedimiento de preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt

Notas:

- Consulte las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras *digene* HC2 Sample Conversion Kit para detalles completos.
- El procesamiento de una parte alícuota de 4 mL de la solución PreservCyt produce suficiente para 2 pruebas, cuando se prueba manualmente. El volumen mínimo que puede procesarse es de 4 mL.
- Prepare los especímenes de la solución PreservCyt en lotes de 36 ó menos; de lo contrario, pueden desplazarse los pellets cuando se decante el sobrenadante. Esto es importante para mantener la integridad del pellet celular durante la etapa de decantación. Si se preparan viales adicionales de solución PreservCyt, no empiece a prepararlos hasta después de completar la preparación del primer lote (véase la tabla a continuación).

Preparación de reactivos

Si no se realiza previamente, prepare el reactivo de desnaturalización (DNR) del kit de conversión de muestras *digene* HC2 Sample Conversion Kit» adicionando 3 gotas de colorante indicador a la botella de DNR y mezcle bien. La solución deberá ser de un color púrpura oscuro uniforme.

Se determinan los requerimientos de volumen con base en el número de duplicados a probar por espécimen. Use la tabla a continuación.

Requerimientos de volumen: preparación de reactivos

Número de pruebas	Volumen de solución PreservCyt	Volumen de solución amortiguadora de conversión
1-2	4 mL	0.4 mL
3	6 mL	0.6 mL
4	8 mL	0.8 mL
5	10 mL	1.0 mL
6	12 mL	1.2 mL

1. Etiquete el tubo Sarstedt cónico de 10 mL o un tubo cónico de marca VWR o Corning de 15 mL (requerido para el método del MST Vortexer 2) con el número de identificación de especímenes apropiado.
2. Manejo de un espécimen a la vez:
 - a. Por 5-10 segundos, agite vigorosamente el vial de PreservCyt con la mano y pase por vórtice cada vial individualmente usando una mezcladora de vórtice en una configuración de velocidad máxima. Haga esto para resuspender las células y asegurar una homogeneidad.
 - b. Inmediatamente, conforme se asientan las células muy rápidamente, pipete el volumen apropiado del espécimen PreservCyt en el tubo etiquetado. Lleve la solución PreservCyt al fondo del tubo cónico para minimizar el material celular que se adhiere al interior del tubo.
3. Agregue el volumen apropiado de la solución amortiguadora de conversión de muestras a cada tubo (véase la tabla anterior, *Requerimientos de volumen: preparación de reactivos*).
4. Vuelva a poner la tapa y mezcle el contenido de cada tubo completamente usando una mezcladora de vórtice con accesorio de copa.
5. Centrifugue los tubos en un rotor oscilante a 2,900 ± 150 x g por 15 ± 2 minutos.
6. Durante la centrifugación, prepare la mezcla de *medio de transporte de especímenes digene* (STM) + reactivo de desnaturalización (DNR) en una razón 2:1, de acuerdo con la tabla a continuación (*requerimientos de volumen, STM/DNR*).

Nota: Debe prepararse fresca la solución cada día que se esté realizando la prueba.

- a. Para determinar el volumen total de mezcla de STM/DNR requerido, use el volumen inicial del espécimen de solución PreservCyt como guía y luego multiplique los volúmenes de STM y DNR «por tubo» por el número de especímenes a procesar (véase la tabla a continuación)

Requerimientos de volumen: STM/DNR

No. de pruebas	Volumen de solución PreservCyt	Volumen de STM por tubo para mezcla STM + DNR final *	Volumen de DNR por tubo para mezcla STM + DNR final *	Mezcla de STM+DNR adicionada al tubo
1-2	4 mL	120 µL	60 µL	150 µL
3	6 mL	170 µL	85 µL	225 µL
4	8 mL	220 µL	110 µL	300 µL
5	10 mL	270 µL	135 µL	375 µL
6	12 mL	320 µL	160 µL	450 µL

* No deberán adicionarse los volúmenes listados en estas columnas directamente al tubo de especímenes.

- b. Mezcle la solución completamente por vórtice.
7. Quite los tubos de la centrífuga un tubo a la vez y colóquelos en una gradilla o gradilla de conversión del MST Vortexer 2. Deberá estar presente un pellet rosa/anaranjado en el fondo de cada tubo.
8. Manejo de cada tubo individualmente:
 - a. Quite la tapa y apártela en una toalla de papel con poca pelusa limpia.
 - b. Decante cuidadosamente el sobrenadante.
 - c. Mantenga la posición del tubo invertida y seque suavemente (aproximadamente 6 veces) en toallas de papel absorbente con poca pelusa para quitar el exceso de líquido. Use un área limpia de la toalla cada vez. No deje que el pellet celular se deslice hacia abajo del tubo durante el secado.
 - d. Coloque el tubo en una gradilla o la gradilla de conversión de MST Vortexer 2.

Notas:

- No seque en la misma área de la toalla de papel absorbente con poca pelusa.
- Es importante quitar la cantidad máxima de solución PreservCyt por secado. No obstante, es normal ver la solución PreservCyt residual después del secado.

Método de vórtice de tubos manual/individual

1. Agregue el volumen apropiado de *medio de transporte de especímenes digene* + reactivo de desnaturalización a cada pellet. Vuelva a suspender cada pellet poniendo en vórtice cada tubo individualmente durante por lo menos 30 segundos en la configuración de velocidad más alta. Si es difícil de volver a suspender un pellet, ponga en vórtice 10-30 segundos adicionales o hasta que el pellet flote gueto desde el fondo del tubo. Si un pellet queda sin disolverse después del vórtice adicional (un total de 2 minutos máximo), anote la identificación del espécimen y siga con la siguiente etapa.
2. Ponga los tubos en baño maría a 65 ± 2° C por 15 ± 2 minutos. Asegúrese de que el nivel de agua sea suficiente para cubrir todo el líquido y los tubos.
3. Quite la gradilla con especímenes del baño maría y pase por vórtice los especímenes de forma individual por alrededor de 15-30 segundos.

Nota: Asegúrese de que todos los pellets estén completamente resuspendidos en este punto. Los especímenes que todavía tengan pellets visibles no son aceptables para pruebas.

4. Regrese la gradilla al baño maría a 65 ± 2° C y continúe la desnaturalización por otros 30 ± 3 minutos.
5. Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de paro opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

Método de tubos de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2

Notas:

- El método de tubos de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2 está validado para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt después de la centrifugación y decantación del sobrenadante.
- No se ha validado el procedimiento del MST Vortexer 2 para poner en vórtice especímenes de la solución PreservCyt con solución amortiguadora de conversión de muestras antes de la centrifugación.
- Solamente el MST Vortexer 2 está diseñado para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt.
- La gradilla y tapa de conversiones están diseñados específicamente para acomodar tubos cónicos de 15 mL marca VWR o Corning. El usuario deberá usar solamente un tipo de tubo en la gradilla de conversiones a la vez. Otras marcas no están validadas para su uso.



- Se requiere un acatamiento estricto a los tiempos de vórtice especificados de la gradilla de conversión y la tapa
- No pueden usarse la gradilla de conversión y la tapa para poner en el vórtice los calibradores y controles de calidad del kit de prueba de ADN *digene* HC2. La altura de los tubos de STM previene un vórtice adecuado usando la gradilla de conversión.

1. Después de secar cada tubo cónico de 15 mL etiquetado, coloque cada uno en su posición apropiada en la gradilla de conversión.
2. Agregue el volumen apropiado de la mezcla de medio de transporte de especímenes *digene* + reactivo de desnaturalización a cada pellet.
3. Cubra los tubos cónicos de 15 mL con película selladora de tubos DuraSeal jalando la película sobre los tubos en la gradilla.
4. Coloque la tapa de la gradilla sobre los tubos cubiertos de película y asegure la tapa en su lugar con las dos abrazaderas laterales. Corte la película con el cúter después de que se aprieta de manera segura la tapa.
5. Mueva la palanca con mango rojo hacia arriba para que esté en una posición horizontal.
6. Ponga la gradilla de conversión y la tapa en el MST Vortexer 2 para que la esquina con muesca más grande de la gradilla de conversión se ubique en la esquina frontal derecha. Posicione la gradilla y la tapa en la plataforma del MST Vortexer 2 para que se ajuste de forma segura dentro de las guías. Asegure la gradilla en su lugar moviendo la palanca con mango rojo hacia abajo a la posición vertical. Esto asegurará la gradilla en su lugar.
7. Verifique que la configuración de la velocidad esté en 100 (máxima velocidad) y que el botón Pulser se encuentre en la posición OFF (apagada).
8. Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido). Ponga en vórtice los tubos por 30 segundos.
9. Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado).
10. Quite la gradilla de conversión del Vortexer levantando en la palanca con mango rojo.
11. Coloque la gradilla en el baño maría a $65 \pm 2^\circ \text{C}$ por 15 ± 2 minutos. Asegúrese de que el nivel de agua cubra completamente todo el líquido en todos los tubos.
12. Después de una incubación de 15 minutos, quite la gradilla con especímenes del baño maría.
13. Para prevenir una salpicadura, seque la gradilla del exceso de agua antes de ponerla en el MST Vortexer 2.
14. Asegure la gradilla de conversión en el MST Vortexer 2, como se describe en la *Etapa 6*.
15. Verifique que la configuración velocidad esté en 100 y ponga el interruptor en la posición de ON (prendido). Pase por vórtice los tubos por 1 minuto.
16. Ponga el interruptor en la posición de OFF (apagado).
17. Regrese la gradilla al baño maría a $65 \pm 2^\circ \text{C}$ y continúe la desnaturalización por 30 ± 3 minutos.
18. Quite la gradilla del baño maría, seque la gradilla y asegúrela en el Vortexer.
19. Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido) Ponga en vórtice por 10 segundos en la configuración máxima.
20. Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado). Quite la gradilla.
21. Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y la película selladora de tubos DuraSeal de los especímenes.
22. Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de paro opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

Punto de paro opcional

Después de la desnaturalización, pueden almacenarse todos los especímenes a $2 - 8^\circ \text{C}$ de un día para otro o a -20°C por hasta 3 meses. Para una refrigeración de un día para otro, pueden dejarse los especímenes en el MST, espécimen *digene*, o gradilla de conversión con la película nueva DuraSeal y la tapa de la gradilla reemplazadas. Antes del almacenamiento a -20°C , deben quitarse la tapa de la gradilla y la película DuraSeal y las tapas colocadas en los tubos. Si se usó el procedimiento de vórtice manual, coloque la gradilla de los tubos con tapas en la temperatura de conservación deseada. En cualquier caso, deben equilibrarse los especímenes a temperatura ambiente ($20 - 25^\circ \text{C}$) y ponerse en vórtice completamente antes de seguir con la etapa de hibridación.

Nota: No almacene o embarque los especímenes desnaturalizados en hielo seco.

Puede realizarse un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación con un máximo de 2 horas a temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelación. Para los especímenes procesados usando el MST Vortexer 2, quite la tapa de la gradilla de conversión y la película selladora de tubos DuraSeal de los tubos cónicos de 15 mL y ponga la tapa a cada tubo antes de conservar los especímenes a -20°C .

HIBRIDACIÓN

Notas:

La mezcla de sondas de VPH de alto riesgo es viscosa. Deberá tenerse cuidado de asegurar una mezcla completa y que la cantidad requerida se dispense completamente en cada micropozo. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.

Importante: Algunos especímenes cervicales pueden contener sangre u otro material biológico que pueda ocultar los cambios de color en la adición de la mezcla de sonda. Los especímenes que muestren un color oscuro antes de la adición de reactivo de desnaturalización pueden no dar el cambio de color apropiado en esta etapa. En estos casos, no mostrar el cambio apropiado de color no afectará los resultados del ensayo. Puede verificarse la mezcla apropiada observando el cambio de color de los calibradores y controles de calidad.

Método de hibridación usando la placa de hibridación y el calentador de microplacas I

Notas:

- Pueden hibridarse los especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 en STM y procesados usando el método del MST Vortexer utilizando el método de calentador de microplacas I solamente.
- Si se ha congelado o refrigerado el espécimen desnaturalizado, equilibre a $20-25^\circ \text{C}$ y ponga en vórtice en la configuración de máxima velocidad por 5 segundos si se usa un vórtice manual, ó 10 segundos si se usa el MST Vortexer 2 con especímenes PreservCyt.
- Precaliente el calentador de microplacas I a $65 \pm 2^\circ \text{C}$ por 60 minutos antes de su uso. Véase el Manual del operador del calentador de microplacas I para más instrucciones, como sea necesario.

1. Obtenga y etiquete una microplaca de hibridación.
2. Pipeteo 75 μL de cada calibrador, control de calidad o espécimen en el fondo de un micropozo de hibridación vacío después de que se cree la distribución de las placas bajo *Preparación*. Evite tocar los costados de los pozos y limita la formación de burbujas de aire. Use una punta de pipeta extra larga y limpia para cada transferencia para evitar una contaminación cruzada de los calibradores, controles de calidad o especímenes. No es necesario quitar el dispositivo de recolección de especímenes del tubo de transporte de especímenes. Pueden cubrirse los especímenes desnaturalizados con tapa rosca de tubos de recolección de especímenes y almacenarse con dispositivos de recolección de especímenes que permanezcan en los tubos.

Nota: Pueden ocurrir resultados falsos positivos si no se pasan cuidadosamente las partes alícuotas de los especímenes. Durante la transferencia del espécimen, no toque la punta de pipeta hacia dentro del tubo cuando quite la parte alícuota de 75 μL .

3. Después de pasar el último espécimen, cubra con Parafilm o una tapa de plástico e incube la microplaca de hibridación por 10 minutos a $20-25^\circ \text{C}$.
4. Divida en partes alícuotas la mezcla de sondas de VPH de alto riesgo preparada y completamente puesta en vórtice en un reservorio de reactivos desechable. Pipeteo cuidadosamente 25 μL de la mezcla de sondas de VPH de alto riesgo en cada pozo de las microplacas de hibridación usando una pipeta de 8 canales y puntas frescas para cada fila. Dispense el volumen de la sonda en cada pozo de hibridación, previniendo una salpicadura de regreso. Evite tocar los costados de los pozos.

Nota: Para la etapa anterior, use una pipeta de 8 canales que esté equipada con puntas de 25-200 μL y que sea capaz de suministrar 25-75 μL . Para un pequeño número de pozos, use una pipeta de un solo canal (equipada con puntas de 25-200 μL) en lugar de una pipeta de 8 canales.

5. Cubra las microplacas de hibridación con una tapa para placas y agite en el agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture puesto a $1100 \pm 100 \text{rpm}$ por 3 ± 2 minutos. Los calibradores, controles de calidad y los especímenes deberán tomarse amarillos después de la agitación. Los pozos que queden púrpuras pueden no haber recibido la cantidad apropiada de la mezcla de sondas. Agregue 25 μL adicionales de la mezcla de sondas a los especímenes que queden púrpuras y agite otra vez. Si los pozos quedan púrpuras después de seguir este procedimiento, deberán volverse a probar los especímenes.

Notas:

- Después de agitar, los especímenes de la solución PreservCyt deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.
- Cuando coloque las microplacas de hibridación en el calentador de microplacas I, deberá tenerse cuidado en no causar una salpicadura.

6. Incube en un calentador de microplacas I precalentado y equilibrado a $65 \pm 2^\circ \text{C}$ por 60 ± 5 minutos.

Nota: Cree un archivo de distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayos *digene* para el VPH si esto no se ha completado anteriormente.

Método de hibridación usando microtubos y baño maría

Notas:

- No se ha validado el procesamiento de especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 en medio de transporte de especímenes *digene* (STM) usando el método MST Vortexer 2 para la mezcla y el método del baño maría para la hibridación. Pueden hibridarse los especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 en STM y procesados usando el método MST Vortexer 2 usando el método del calentador de microplacas **¡solamente!**.
- Si se ha almacenado el espécimen desnaturalizado a -20° C, deje que se descongele el espécimen a 20-25° C y ponga completamente en vórtice el espécimen antes de seguir con la hibridación.

- Etiquete y coloque el número requerido de microtubos de hibridación en la gradilla de microtubos.
- Quite los calibradores, controles de calidad y especímenes del baño maría después de la incubación. Ponga en vórtice cada tubo individualmente durante por lo menos 5 segundos justo antes de quitar las partes alicuotas.
- Pipeteo 75 µL de cada calibrador, control de calidad o espécimen en el fondo de los microtubos de hibridación vacíos después de que se haya creado la distribución de placas bajo *Preparación*. Use una punta de pipeta extra larga y limpia para cada transferencia para evitar una contaminación cruzada de los calibradores, controles de calidad o especímenes. No es necesario quitar el dispositivo de recolección de especímenes del tubo de transporte de especímenes. Pueden almacenarse los especímenes desnaturalizados con los dispositivos de recolección de especímenes que queden en los tubos.

Nota: Pueden ocurrir resultados falsos positivos si no se pasan cuidadosamente las partes alicuotas de los especímenes. Durante la transferencia del espécimen, no toque la punta de pipeta hacia dentro del tubo cuando quite la parte alicuota de 75 µL.

- Después de pasar el último espécimen, incube los microtubos de hibridación por 10 minutos a 20-25° C.
- Divida en partes alicuotas la mezcla de sondas preparada y puesta en vórtice completamente en un reservorio de reactivos desechable. Pipeteo cuidadosamente 25 µL de la mezcla de sondas en cada microtubo que contenga calibradores, controles de calidad y especímenes usando una pipeta de 8 canales y puntas frescas para cada fila. Dispense el volumen de la sonda en cada microtubo de hibridación, previniendo una salpicadura de regreso.
- Cubra los microtubos con un sellador de placas. Ponga la cubierta de la gradilla en la parte superior de la misma gradilla. Agite la gradilla de microtubos en el agitador giratorio I puesto a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Los calibradores, controles de calidad y los especímenes deberán tomarse amarillos después de la agitación. Los tubos que queden púrpuras pueden no haber recibido la cantidad apropiada de la mezcla de sondas. Agregue 25 µL adicionales de la mezcla de sondas a los especímenes que queden púrpuras y agite otra vez. Si los tubos quedan púrpuras después de seguir este procedimiento, deberán volverse a probar los especímenes.

Nota: Después de agitar los especímenes de la solución PreservCyt, deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.

- Incuba en un baño maría a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. Asegúrese de que el nivel de agua en el baño maría sea suficiente para cubrir todo el volumen de la mezcla de hibridación. Puede dejarse que flote la gradilla de microtubos en el baño maría.

Nota: Cree un archivo de distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayos *digene* para el VPH si esto no se ha completado anteriormente.

CAPTURA HÍBRIDA

- Quite todos, excepto el número requerido de micropozos de captura del marco de placas. Regrese los micropozos no usados a la bolsa original y vuelva a sellar. Con un marcador, enumere cada columna 1, 2, 3... y etiquete la microplaca con un identificador apropiado. Se agregarán los especímenes a los pozos de acuerdo con la distribución de ejemplo preparada bajo *Preparación*.
- Quite cuidadosamente las microplacas de hibridación que contengan calibradores, controles de calidad y especímenes del calentador de microplacas I. Quite inmediatamente la tapa de la placa y colóquela en una superficie limpia. De manera alternativa, quite la gradilla de microtubos del baño maría. Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y jale lentamente el sellador de la placa hacia arriba y a través de la gradilla.
- Pase todo el contenido (aproximadamente 100 µL) de cada calibrador, control de calidad y espécimen de los micropozos de hibridación o microtubos al fondo del micropozo de captura correspondiente usando una pipeta de 8 canales. Use las **puntas de pipeta nuevas** en la pipeta de 8 canales para cada columna

transfiera y deje que se drene bien cada punta de pipeta para asegurar una transferencia completa de especímenes. Si se desea, puede sujetarse la pipeta reposando la mitad de las puntas de pipeta en el borde superior de los micropozos de captura (véase el *diagrama 1*).

DIAGRAMA 1: PIPETEO CORRECTO



CORRECTO

No pipeteo de forma vertical. Evite una salpicadura de regreso.

No permita que la punta toque el fondo del pozo.

- Cubra la microplaca con la tapa para placas o un nuevo sellado de placas y agite en el agitador giratorio I a 1100 ± 100 rpm, a 20-25° C por 60 ± 5 minutos.
- Prepare la solución amortiguadora de lavado. Si usa el lavador de placas automatizado, verifique el enjuague y los reservorios de residuos durante esta incubación. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
- Cuando se complete la etapa de captura, quite la microplaca de captura del agitador giratorio I y quite cuidadosamente la tapa para placas o el sellador para placas. Quite el líquido de los pozos desechando en un lavabo; invierta completamente la placa sobre el lavabo y agite de forma vigorosa con un movimiento descendente siendo cuidadoso en no causar una salpicadura de regreso decantando muy cercanamente al fondo del lavabo. No vuelva a invertir la placa; seque dando golpecitos firmemente de 2 a 3 veces en toallas Kimtowels o toallas de papel de poca pelusa equivalentes. Asegúrese de que se quite todo el líquido de los pozos y que esté seca la parte superior de la placa.

DETECCIÓN HÍBRIDA

Notas:

- Efectúe adiciones a través de la placa en dirección de izquierda a derecha usando una pipeta de 8 canales.
- Se recomienda que se utilice la técnica de pipeteo reverso para mejorar la consistencia de suministro de reactivo. Con esta técnica, se sobrellenan inicialmente las puntas de pipeta usando el segundo paro en el control aspirado/dispensado de la pipeta (símbolo). Véase el procedimiento a continuación. Limpie las puntas en reservorio de reactivos desechable o en un coinete con poca pelusa limpio para quitar el exceso de reactivo antes del envío a la placa.
- Si se desea, puede sujetarse la pipeta reposando la mitad de las puntas de pipeta en el borde superior de los micropozos. Tenga cuidado de no tocar los costados de los micropozos o podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes. Remítase al *diagrama 1* anterior.

- Divida en partes alicuotas el volumen apropiado de reactivo de detección 1 en un reservorio de reactivos (véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos* para instrucciones). Pipeteo cuidadosamente 75 µL de reactivo de detección 1 en cada micropozo de captura usando una pipeta de 8 canales y la técnica de pipeteo reverso. Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color rosa. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.

Procedimiento de pipeteo reverso

- Inserte las puntas en la pipeta de 8 canales, asegúrese de que todas las puntas estén firmemente asentadas.
 - Empuje el émbolo de la pipeta pasado el primer paro al segundo paro.
 - Sumerja las puntas en la solución del reactivo de detección 1.
 - Libere el émbolo lentamente y deje que la solución llene las puntas.
 - Dispense 75 µL de la solución en micropozos presionando el émbolo al primer paro. No libere el émbolo hasta que se hayan resumergido las puntas de pipeta en la solución del reactivo de detección 1.
 - Vuelva a llenar las puntas y repita hasta que se llenen todos los pozos. Llene los micropozos de izquierda a derecha. Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color rosa. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.
- Cubra las placas con la tapa para placas o un Parafilm limpio o equivalente e incuba a 20-25° C por 30-45 minutos.



LAVADO

Lave la placa de captura usando uno de los dos métodos a continuación.

Método automatizado de lavadora de placas

Nota:

- Siempre mantenga prendido el lavador de placas automatizado. Asegúrese de que el reservorio de enjuague esté lleno y que el reservorio de residuos esté vacío. El lavador de placas automatizado enjuagará de manera rutinaria el sistema para su limpieza. Véase el Manual del operador del lavador de placas automatizado para más instrucciones, como sea necesario.

Antes de cada uso:

- Verifique que el reservorio de lavado esté lleno por lo menos a la marca de 1 L. Si no, prepare la solución amortiguadora de lavado. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
- Verifique que el reservorio de enjuague esté lleno de agua desionizada.
- Verifique que el reservorio de residuos esté vacío y que la tapa esté apretada de forma segura.
- El lavador de placas automatizado se preparará automáticamente antes de cada lavado y se enjuagará después de cada lavado.

1. Quite la tapa para placas y coloque la placa en la plataforma del lavador de placas automatizado.
2. Verifique que esté prendido y que en la pantalla se lea: «*digene Wash Ready*» (Lavado *digene* listo) ó «P1».

Nota: Si se está usando solamente una tira parcial de pozos de captura, necesitarán reemplazarse los micropozos vacíos en la placa de captura para completar la columna antes del lavado. Véase la sección *Accesorios para la información de pedidos*.

3. Seleccione el número de tiras a lavar presionando la tecla ROWS (filas) y posteriormente + o - para ajustar. Presione la tecla ROWS (filas) para regresar a «*digene Wash Ready*» (lavado *digene* listo) ó «P1».
4. Presione START/STOP (iniciar/parar) para comenzar.
5. El lavador de placas automatizado realizará seis ciclos de llenado y aspirado tomando aproximadamente 10 minutos. Habrá una pausa breve durante el programa por lo que asegúrese de no quitar la placa prematuramente. Cuando termine de lavar el lavador de placas automatizado, leerá «*digene Wash Ready*» (lavado *digene* listo) ó «P1».
6. Quite la microplaca del lavador de placas automatizado cuando termine el programa. La placa deberá parecer blanca y no deberá quedar líquido rosa residual en los micropozos.

Método de lavado manual

1. Quite el reactivo de detección 1 de los pozos colocando toallas Kintowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes en la parte superior de la placa e invierta cuidadosamente. Antes de invertir, asegúrese de que el papel esté en contacto con toda el área superficial de la placa. Deje que se drene la placa por 1-2 minutos. Seque bien en toallas Kintowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes. Deseche cuidadosamente las toallas Kintowels usadas o toallas de papel con poca pelusa equivalentes para evitar la contaminación con fosfatasa alcalina de etapas posteriores.
2. Usando el aparato de lavado, lave con las manos la placa 6 veces. Debe lavarse cada pozo a sobreflujo para quitar el reactivo de detección 1 de la parte superior de los pozos. El lavado comienza en el pozo A1 y continúa de un modo serpentino hacia la derecha y de forma descendente. Después de que se hayan llenado todos los pozos, decante el líquido en el lavabo con un movimiento hacia abajo fuerte. Se inicia el segundo lavado en el pozo H12 haciendo un movimiento serpentino hacia la izquierda y de forma ascendente. Se repite esta secuencia de 2 lavados 2 veces más para un total de 6 lavados por pozo.
3. Después del lavado, seque la placa invirtiéndola en toallas Kintowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes y golpeteando firmemente 3-4 veces. Reemplaza las toallas y el secado otra vez. Deje la placa invertida y que se drene por 5 minutos. Seque la placa una vez más.
4. La placa deberá parecer blanca y no deberá quedar líquido residual rosa en los micropozos.

AMPLIFICACIÓN DE SEÑALES

Notas:

- Use un nuevo par limpio de guantes para manejar el reactivo de detección 2.
- Divida en partes alícuotas solamente la cantidad de reactivo requerida para realizar el ensayo en el reservorio del reactivo con el fin de evitar la contaminación del reactivo de detección 2. Véase la sección

Preparación y almacenamiento de reactivos. No regrese el reactivo de detección 2 a la botella original. Deseche el material no utilizado después del uso.

- Deberá hacerse sin interrupciones la adición del reactivo de detección 2. Debe ser lo más cercano posible el tiempo de incubación de todos los pozos.
- Tenga cuidado de no tocar los costados del micropozo o de no salpicar el reactivo de regreso a las puntas porque podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes (véase el *diagrama 1*).

1. Pipeteo cuidadosamente 75 µL de reactivo de detección 2 en cada micropozo de captura usando una pipeta de 8 canales y la técnica de pipeteado reverso como se describió previamente. Todos los micropozos deberán tonarse de un color amarillo. Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.
2. Cubra las microplacas con una tapa para placas o Parafilm limpio o equivalente, e incube a 20-25° C por 15-30 minutos. Evite la luz solar directa.
3. Lea la microplaca en el luminómetro después de 15 minutos de incubación (y no más de 30 minutos de incubación).
4. Si no se usó una microplaca completa, quite los micropozos usados del soporte de microplacas, enjuague el soporte completamente con agua desionizada, seque y reserve para el siguiente ensayo.

CRITERIOS DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DE ENSAYOS

Se realiza la verificación de calibración de ensayos para asegurarse de que los reactivos y el material del calibrador suministrado estén funcionando apropiadamente, permitiendo una determinación exacta del valor de corte del ensayo. La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 requiere una calibración con cada ensayo, por lo tanto, es necesario verificar cada ensayo usando los siguientes criterios. Este procedimiento de verificación no está indicado como sustituto para pruebas de control de calidad internas. Los protocolos de ensayo para el VPH *digene* del software de análisis de ensayos *digene* con versión 4.01 ó más reciente automáticamente verifican los criterios a continuación.

1. Calibrador negativo

Debe probarse el calibrador negativo por triplicado con cada ensayo. El promedio del calibrador negativo debe ser ≥ 10 y ≤ 250 URL con el fin de proceder. Los resultados del calibrador negativo deberán mostrar un coeficiente de variación (%CV) de $\leq 25\%$. Si el %CV es $> 25\%$, deseche el valor del calibrador con un valor URL más lejano del promedio como marginal y vuelva a calcular el promedio usando los dos valores remanentes. Si la diferencia entre el promedio y cada uno de los dos valores es $\leq 25\%$, siga con la etapa 2; de lo contrario, es inválida la verificación de la calibración del ensayo y debe repetirse la prueba para todos los especímenes de la paciente. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de los especímenes de las pacientes.

2. Calibrador de alto riesgo

Debe probarse el calibrador de VPH de alto riesgo (HRC) por triplicado con cada ensayo. Los resultados del calibrador deberán mostrar un coeficiente de variación (%CV) de $\leq 15\%$. Si el %CV es $> 15\%$, deseche el valor del calibrador con un valor URL más lejano del promedio como marginal y vuelva a calcular el promedio usando los dos valores del calibrador remanentes. Si la diferencia entre el promedio y cada uno de los dos valores es $\leq 15\%$, siga con la etapa 3; de lo contrario, es inválida la verificación de la calibración del ensayo y debe repetirse la prueba para todos los especímenes de la paciente. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de los especímenes de las pacientes.

La verificación de la calibración del ensayo descrita anteriormente para los calibradores es realizada automáticamente por el software de análisis de ensayos *digene* e impresa en los informes de resultados de la prueba. Los protocolos de ensayo para VPH *digene* del software de análisis de ensayos *digene* con versión 4.01 ó más reciente automáticamente verifican que el %CV del calibrador de alto riesgo sea $\leq 15\%$. No obstante, versiones anteriores (1.0.2 y 1.0.3) del software cualitativo *digene* NO invalidarán el ensayo al menos que el %CV sea $> 25\%$ para el calibrador de VPH de alto riesgo. Por lo tanto, el usuario de los protocolos del ensayo para VPH del software cualitativo *digene* versión 1.0.2 ó 1.0.3 debe verificar manualmente que el %CV calculado por el software cualitativo *digene* sea $\leq 15\%$ y siga como está indicado para la situación 1 en la tabla a continuación. Si el %CV de los duplicados del calibrador cae entre 15 y 25%, remítase a las instrucciones en las situaciones 2 ó 3 en la tabla a continuación y siga con la «Acción del usuario» indicada.

Situación	%CV reportado para los duplicados del calibrador	Acción tomada por el software <i>digene</i>	Acción del usuario
1	≤ 15%	Ensayo reportado como «Válido»	Pueden reportarse los resultados, no se requiere de mayor acción
2	Entre 15% y 25%	Se marginalizan quitados y ensayo reportado como «Válido»	Quite el valor URL del calibrador más lejano del promedio. Vuelva a calcular el %CV del calibrador con los dos valores remanentes. Si el %CV de los dos valores de URL remanentes es >15%, el ensayo es inválido. No deben reportarse los resultados. Si el %CV de los dos valores de URL remanentes es ≤15%, vuelva a calcular el corte del ensayo, posteriormente vuelva a calcular la razón URL/corte para cada espécimen usando este corte. Pueden reportarse estos valores recalculados.
3	Entre 15% y 25%	Un marginal removido y ensayo reportado como «Válido»	El ensayo es inválido, no debe reportarse los resultados. Debe repetirse el ensayo
4	> 25%	Un marginal removido y ensayo reportado como «Inválido»	El ensayo es inválido, no debe reportarse los resultados. Debe repetirse el ensayo.

Con el fin de calcular manualmente el %CV como es requerido en la situación 2 anterior, el usuario deberá dividir la desviación estándar (n-1) de los dos valores de URL duplicados remanentes entre el promedio de los dos valores de URL duplicados remanentes (HRC) y multiplicar ese resultado por 100.

Para calcular el %CV usando Microsoft® Excel® (suministrado con el software cualitativo *digene*), el usuario puede calcular la desviación estándar de los duplicados del calibrador usando la fórmula «STDEV» (Desv. Est.) y determinar la URL promedio del calibrador usando la fórmula «AVERAGE» (promedio). Una vez que se obtengan estos dos valores, divida la DESV. EST. entre el PROMEDIO y multiplique el resultado por 100 para obtener el %CV.

$$(DESV. EST./PROMEDIO) * 100 = \%CV$$

Si hay alguna pregunta relacionada con el cálculo de los %CV, el recálculo del corte del ensayo o el recálculo de la URL/corte de los especímenes, favor de llamar a QIAGEN Technical Services (servicios técnicos).

Para determinar la reproducibilidad y estimado de frecuencia del calibrador de alto riesgo en los cuales pueden ser necesarios recálculos manuales, se compilaron los resultados de tres evaluaciones clínicas que involucraban 152 ensayos realizados con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Los resultados mostraron que el %CV promedio para estos 152 ensayos era del 8.1%. Considerando los 3 duplicados del calibrador por ensayo, se observó una reproducibilidad del calibrador mayor al 15% CV para solamente 17 de 152 (11.2%), con 10 de estos 17 dando como resultado un %CV entre 15-25% (situación 2). Para los 17 ensayos que produjeron un %CV mayor a 15, se quitó un marginal sencillo y se recalculó el %CV. Después de la acción del usuario para la situación 2, solamente uno de los %CV permaneció mayor al 15%, invalidando el ensayo. Se calcularon los %CV de los 151 ensayos restantes para un %CV promedio de 6.0

- Se usan los resultados del promedio del calibrador (HRC%) y del promedio del calibrador negativo (NC%) para calcular la razón HRC%/NC%. La versión 4.01 ó más reciente de los protocolos del ensayo *digene* para VPH automáticamente verifican el rango aceptable de la razón HRC%/NC% dentro de 2-15. No obstante, las versiones anteriores (v1.0.2 y v1.0.3) de los protocolos de ensayo del software cualitativo *digene* no verifican el límite superior de este rango. Esta razón debe cumplir los siguientes criterios para verificar la calibración del ensayo antes de que puedan interpretarse los resultados de los especímenes:

Rangos aceptables de verificación de la calibración de ensayos
2.0 ≤ HRC%/NC% ≤ 15.0

- Calcule la razón HRC%/NC%. Si la razón es ≥2.0 y ≤15.0, siga con la siguiente etapa. Si la razón es < 2.0 ó >15.0, la calibración del ensayo es inválida y debe repetirse. Deberán repetirse todos los especímenes de las pacientes dentro del ensayo.

Nota: Se han establecido rangos aceptables para los calibradores solamente para luminómetros aprobados por QIAGEN.

CÁLCULO DEL CORTE

Una vez que se haya validado un ensayo de acuerdo con los criterios establecidos anteriormente, el valor de corte para determinar los especímenes positivos es el HRC%.

Cálculo de corte de ejemplo:

	Valores de URL de NC	Valores de URL de HRC
	97	312
	101	335
	91	307
Valor promedio	96	318
%CV	4.9	4.7
HRC%/NC%	NA	3.31

Por lo tanto, el valor de corte es (HRC%) = 318

Notas:

- Se calculan y reportan los valores de URL/CO y los resultados positivos/negativos para todos los especímenes probados en los informes de resultados de prueba del software de análisis de ensayos *digene*.
- Para el sistema Rapid Capture, se ha programado el protocolo del software de VPH del RCS para aplicar un factor de ajuste de calibración (CAF, por su abreviatura en inglés) de 0.8 al valor de URL promedio de los duplicados del calibrador positivo válidos. Este CAF es necesario para que las características de desempeño del ensayo queden equivalentes al procedimiento de prueba manual. Este cambio solamente se aplica a los ensayos realizados usando el sistema Rapid Capture. Por lo tanto, es crítico seleccionar el protocolo de software correcto para su uso con cada método de prueba específico con el fin de generar resultados de prueba exactos. Deberán convertirse todos los valores de URL de especímenes a una razón al valor de corte (CO) apropiada. Por ejemplo, deberán expresarse todos los ensayos como un valor de URL/corte de especímenes.

CONTROL DE CALIDAD

Se suministran los especímenes de control de calidad con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Consulte la guía de usuario aplicable del software de análisis de ensayos *digene* para instrucciones sobre cómo capturar los números de lote y las fechas de caducidad de los controles de calidad. Deben incluirse estos controles en cada ensayo, y el URL/CO de cada control debe caer dentro de los siguientes rangos aceptables para que se considere válido. Los protocolos del ensayo para VPH *digene* versión 4.01 y más reciente automáticamente invalidarán un ensayo si los controles no se encuentran dentro de los límites especificados. Las versiones 1.0.2 y 1.0.3 del protocolo anterior no invalidarán automáticamente un ensayo si los controles de calidad no se encuentran dentro de los límites especificados. Si los controles de calidad no caen dentro de estos rangos, el ensayo es inválido y debe repetirse. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de ninguna paciente para cualquier ensayo inválido.

Control	Tipo de VPH	Resultado esperado (Valor de URL/corte)		
		Mínimo	Máximo	Promedio
QC1-LR	Riesgo bajo (VPH 6)	0.001	0.999	0.5
QC2-HR	Riesgo alto (VPH 16)	2	8	5.0

Usuarios del sistema *digene* Hybrid Capture 2: si los controles predefinidos (QC1, QC2, QC3 y QC4) se encuentran en la lista de controles, elimínelos dentro del software y defina los controles (QC1-LR y QC2-HR) listados en la tabla anterior. Si el laboratorio escoge correr los duplicados de QC1 y QC2 en una placa, el software del sistema *digene* Hybrid Capture 2 no informará los resultados ambulatorios si el CV de QC1 ó QC2 excede el 25%.

- El control de calidad del VPH de alto riesgo proporcionado en el kit es el banco de ADN del VPH donado y no se deriva del VPH de tipo silvestre. El QC2-HR es de 5 pg/mL de ADN del VPH 16 mientras que el calibrador contiene 1 pg/mL de este mismo material.
- Este material de control no actuará como un control de procesamiento apropiado para el espécimen PreservCyt.
- Los controles proporcionados con este kit de prueba deben usarse para el control de calidad interno. De manera alternativa, pueden probarse los controles externos de acuerdo con los lineamientos o requerimientos de la normatividad local, estatal y/o del país u organizaciones acreditadoras.

Los usuarios pueden desarrollar este material de control de calidad externo, como es definido por NCCLS C24-A (actualmente conocido como CLSI).³⁷ Favor de remitirse a NCCLS C24-A para una guía adicional sobre las prácticas de pruebas de control de calidad internas apropiadas.



3145

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE ESPECÍMENES

1. Se consideran positivos los especímenes con razones de URL/CO ≥ 1.0 .
2. Se consideran negativos o no detectados los especímenes con razones de URL/CO < 1.0 para los 13 tipos de VPH probados. Las secuencias de ADN del VPH de alto riesgo están ya sea ausentes o los niveles de ADN de la solución del VPH se encuentran por debajo del límite de detección del ensayo.
3. Cuando pruebe especímenes de la solución PreservCyt, si la razón de URL/CO de un espécimen es ≥ 1.0 y < 2.5 , debe volverse a probar el espécimen. Si el resultado de la re-prueba inicial es positivo (≥ 1.0 URL/CO), puede reportarse como positivo el espécimen y no necesita completarse otra re-prueba más. No obstante, si el resultado de la primera re-prueba es negativo (< 1.0), entonces necesita completarse una segunda re-prueba (tercer resultado) para generar un resultado final. Se considera como el resultado final el resultado de la segunda re-prueba y debe reportarse (véase la tabla 1 a continuación).
4. Ya que este ensayo solamente detecta los tipos de VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, pueden estar presentes otros tipos de bajo riesgo de VPH en el espécimen.

Tabla 1
Interpretación de los resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2

Razón de URL/CO	Resultado de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo <i>digene</i> HC2	Informe del resultado	Interpretación
< 1.0	Negativo	Tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 no detectados.	<p>PAP WNL: probabilidad muy baja de NIC 2-3 subyacente o cáncer; los resultados no excluyen una infección por VPH futura o anomalías citológicas con NIC 2-3 subyacente o cáncer.</p> <p>PAP ASC-US: probabilidad baja de NIC 2-3 subyacente o cáncer; los resultados no están indicados para prevenir a las mujeres de proceder a colposcopia.</p> <p>PAP LSIL: probabilidad reducida de que NIC 2-3 o cáncer se encuentren en colposcopia en comparación con LSIL positivo a la prueba de ADN del VPH de alto riesgo <i>digene</i> HC2.</p> <p>PAP HSIL: no se espera que sea un resultado común, representan un posible error en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo <i>digene</i> HC2 o la citología.</p>
≥ 1.0	Positivo	Tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 detectados.	<p>PAP WNL: probabilidad baja de NIC de alto grado subyacente; la infección por VPH puede ser transitoria, resolviéndose o siendo persistente.</p> <p>PAP ASC-US/LSIL: probabilidad baja pero incrementada de que sea detectado NIC de alto grado subyacente en colposcopia. La literatura médica sugiere que la progresión a una enfermedad de alto grado sea posible.^{3,6}</p> <p>PAP HSIL: alta probabilidad de que NIC 2-3 ó cáncer sean detectados en colposcopia.</p>

La magnitud del resultado medido (URL) por encima del corte es indicativa de la cantidad total de ADN del VPH de alto riesgo presente, pero esta medición no tiene una utilidad clínica establecida.

Los resultados del ensayo negativos no descartan completamente la presencia de tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, particularmente en concentraciones muy bajas.

Los efectos de la edad y la positividad del VPH no se conocen completamente. Se ha demostrado en estudios que la prevalencia del VPH se reducirá con la edad.³⁴ Para información sobre el desempeño específico de la edad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 versus un diagnóstico histológico de neoplasia de alto grado, favor de remitirse a la tabla 8 de estas instrucciones de uso.

Se recomiendan pruebas adicionales en cualquier circunstancia cuando resultados falsos positivos o falsos negativos pudiesen conducir a consecuencias médicas, sociales o psicológicas adversas.

Deberán interpretarse los resultados de esta prueba solamente en conjunción con la información disponible de la evaluación clínica de la paciente y de otros procedimientos.

Los resultados de esta prueba no están indicados para prevenir a las mujeres de proceder a colposcopia o de continuar el tamizaje cervical de cáncer regular. Esta prueba no está indicada para su uso en mujeres con citología normal que sean menores a 30 años de edad.

ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO

Se usa este algoritmo para interpretar los resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 en conjunción con los resultados de la prueba de Papanicolaou como una ayuda en la determinación del control apropiado de pacientes. Deberán interpretarse los resultados solamente en conjunción con la información disponible de la evaluación clínica de la paciente que incluye otros procedimientos, historia y demografía de la paciente.

Tabla 2
Algoritmo de diagnóstico

Citología	VPH de alto riesgo	
	Positiva	Negativa
Normal (30 años de edad y mayores)	Seguimiento de conformidad con los lineamientos de tamizaje aceptados para mujeres citológicamente normales con factores de riesgo para cáncer cervical. ^{a, b}	Seguimiento de acuerdo con los lineamientos de tamizaje rutinarios. ^{a, c}
ASC-US	Remítase a los lineamientos actuales de ACS, ASCCP, CDC, US Public Health Service (Sanidad Pública de EE.UU.) o de ACOG	
LSIL o HSIL	Remítase a los lineamientos actuales de ACS, ASCCP, CDC, US Public Health Service o de ACOG	

^a A discreción del médico, de conformidad con los lineamientos actuales de ACS, ASCCP, CDC, US Public Health Service y de ACOG.

^b La literatura médica indica que aunque el riesgo de desarrollar NIC 2-3 y cáncer se incrementa cuando está presente el VPH de alto riesgo, la mayoría de las infecciones es transitoria y no es indicativa de NIC 2-3 subyacente o cáncer.

^c Un resultado negativo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con un resultado de Papanicolaou normal concurrente implica un riesgo bajo en un punto en el tiempo único para el desarrollo de NIC 2-3 ó cáncer y es, por lo tanto, clínicamente significativo para valorar el riesgo; no obstante, hay datos insuficientes para establecer un período definitivo durante el cual, este riesgo más bajo es clínicamente relevante.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* para limitaciones adicionales del procedimiento específicas para el uso de ese sistema para una producción de muestras de alto volumen.
- No se recomienda la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para los tipos de virus de papiloma humano 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 para la evaluación de abuso sexual sospechoso.
- La prevalencia de la infección por VPH en una población puede afectar el desempeño. Se reducen los valores predictivos positivos cuando se prueban poblaciones con prevalencia baja o individuos sin riesgo de infección.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por VPH porque niveles muy bajos de infección o error en el muestreo pueden causar un resultado falso negativo. Tampoco esta prueba detecta los tipos de ADN de VPH de bajo riesgo (6, 11, 42, 43, 44 y muchos otros tipos de bajo riesgo).
- Solamente deberá usarse la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con especímenes cervicales recolectados usando el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 con medio de transporte de especímenes *digene* (STM) o especímenes citológicos cervicales recolectados usando un dispositivo de recolección tipo escoba y colocarse en solución PreservCyt. Pueden ensayarse los especímenes de la biopsia solamente si se colocan inmediatamente en STM y se conservan a -20° C hasta que se ensayen.
- No deberá usarse el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 DNA Collection Device para la recolección de especímenes de mujeres embarazadas.
- La infección con VPH no es un indicador de HSIL citológico o NIC de alto grado subyacente ni implica que se desarrollen NIC 2-3 ó cáncer. La mayoría de las mujeres infectada con uno o más tipos de VPH de alto riesgo no desarrollan NIC 2-3 ó cáncer.
- Un resultado de VPH de alto riesgo negativo no excluye la posibilidad de HSIL citológico futuro o NIC 2-3 subyacente o cáncer. Ocurre una pequeña proporción de lesiones de alto grado en mujeres que son VPH de alto riesgo negativas a través de tecnologías existentes.
- Existe una pequeña cantidad de hibridación cruzada entre los tipos de VPH 6 y 42 (tipos de VPH de bajo riesgo) y la sonda de VPH de alto riesgo. Pueden ser positivos los especímenes con niveles altos (4 ng/mL o más alto) de ADN de VPH 6 ó VPH 42. También se ha reportado en la literatura que los códexes de sondas complejas similares a aquéllas usadas en esta prueba pueden causar resultados falsos

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

positivos debido a la hibridación cruzada con los tipos de VPH 11, 40, 53, 54, 55, 66, MM4, MM7, MM8 ó MM9.³⁹ Aunque son raros varios de estos tipos de VPH o tipos novedosos no encontrados frecuentemente con enfermedad de alto grado, puede reportarse incorrectamente a pacientes cuyos especímenes contienen niveles altos de estos tipos de ADN del VPH como positivos en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.^{12, 40}

- La prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 está diseñado para detectar tipos de VPH de alto riesgo, incluyendo 39, 58, 59 y 68. Estudios analíticos conducidos por QIAGEN, usando el ADN plasmídico de VPH clonado, demuestran que el ensayo detecta estos tipos en niveles que van de 0.62 pg/mL a 1.39 pg/mL. Esto es equivalente a las características de detección de los otros tipos de VPH como blanco por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. QIAGEN pudo validar la detección de estos tipos de VPH solamente en un número limitado de especímenes clínicos. Debido a la prevalencia baja de estos tipos en la población general (como fue demostrado por Bosch et al.), no se han confirmado estadísticamente las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para la detección de los tipos de VPH 39, 58, 59 y 68.
- Si están presentes altas concentraciones de crema antifúngica, jalea anticonceptiva o ducha vaginal en el momento en que se recolecte un espécimen para las pruebas de VPH, existe probabilidad de obtener un resultado falso negativo si estos especímenes contienen niveles de ADN del VPH que produzcan valores de URLCCO cerca del corte del ensayo.
- Es posible una reactividad cruzada entre la sonda de VPH de alto riesgo y el pBR322 plasmídico. Se ha reportado la presencia de secuencias homólogas de pBR322 en especímenes genitales humanos y podrían ocurrir resultados falsos positivos en presencia de niveles altos de plásmido bacteriano.
- No existe una utilidad conocida para las pruebas de VPH en los resultados AGUS de Papanicolaou.
- Cuando procese especímenes de la solución PreservCyt, podrían ocurrir resultados falsos negativos si no está visible el pellet celular después de la centrifugación. Esta observación es indicativa de material celular insuficiente disponible para obtener un resultado de prueba confiable.
- Se consideran inadecuados los especímenes de la solución PreservCyt que contengan volúmenes menores a 4 ml. después de que se preparan los portaobjetos de la prueba de Papanicolaou ThinPrep para las pruebas de ADN *digene* HC2.
- Prepare los especímenes de la solución PreservCyt en lotes de 36 ó menos. Si procesa más de 36 especímenes al mismo tiempo, pueden soltarse y desecharse de manera accidental los pellets adicionales formados después de la centrifugación durante la etapa de decantación.
- Debe realizarse la etapa de desnaturalización del procedimiento de procesamiento de especímenes como se instruyó en estas instrucciones de uso. La ejecución inapropiada de la etapa de desnaturalización del procedimiento de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 puede conducir a resultados falsos positivos. La colocación en el vórtice de especímenes, inversión de tubos y agitación inapropiados podría dar como resultado una desnaturalización incompleta de los híbridos de ARN/ADN no específicos endógenos a especímenes cervicales. Podrían ocurrir resultados falsos positivos debido a la contaminación del espécimen de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con estos híbridos de ARN/ADN no específicos. Con el fin de prevenir un posible desplazamiento de este material celular no desnaturalizado, es importante que la punta de la micropipeta no toque los costados del tubo de desnaturalización de especímenes durante la transferencia del espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas de VPH.

RESULTADOS ESPERADOS

PREVALENCIA DEL VPH DE ALTO RIESGO

La prevalencia de la infección por tipo de VPH, como es medida por la detección de un grupo de riesgo de ADN del VPH, varía con la población de pacientes. Las variables importantes incluyen la edad en el primer coito, número de parejas sexuales, enfermedades sexualmente transmisibles concurrentes y la historia de pruebas de Papanicolaou anormales.^{2, 24, 31, 41} También se ha reportado que la prevalencia de infección por VPH se reduce dramáticamente con la edad.^{2, 38} Por lo tanto, no es posible definir un patrón típico único de prevalencia para infección por VPH. La tabla 3 muestra la prevalencia en los Estados Unidos de cada tipo de VPH de alto riesgo detectado por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como es reportado por dos investigadores independientes. Estos valores de prevalencia son representativos solamente de las poblaciones probadas y pueden variar en áreas específicas del país.

Tabla 3

Prevalencia del tipo de VPH de alto riesgo específico en los Estados Unidos (restringido a los especímenes VPH positivos de alto riesgo)

Tipo de VPH	Prevalencia (%)
16	54.5 14
18	9.1 14
31	9.1 14
33	0.2 13
35	0.2 13
39	*
45	27.3 14
51	0.4 13
52	0.5 13
56	0.2 13
58	*
59	*
68	*

* Bosch, et al reportaron que los tipos de VPH 39, 58, 59 y 68 mostraban prevalencia a nivel mundial de 1.6%, 2.1%, 1.7%, y 1.2%, respectivamente; sin embargo, no se determinó independientemente la prevalencia en los EE.UU.¹⁴

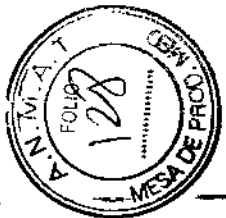
La tabla 4 muestra los resultados de prevalencia de VPH de alto riesgo compilados de varios grupos de mujeres referidos a tres clínicas ginecológicas dentro de los centros médicos metropolitanos (prevalencia alta para la infección por VPH) por anomalía cervical y probadas usando la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Estos resultados demuestran un patrón bastante consistente de positividad de VPH a través de los lugares.

Tabla 4

Prevalencia de los tipos de VPH de alto riesgo a través de los lugares ASC-US o población con Papanicolaou más severo

Lugar	Número de pacientes	Porcentaje de tipos de alto riesgo VPH positivos (# pos/# total)
1	200	62.0% (124/200)
2	140	63.6% (89/140)
3	184	52.7% (97/184)
Total	524	59.2% (310/524)

La tabla 5 muestra la prevalencia de tipos únicos o combinados de VPH de alto riesgo como es detectado por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como es reportado por seis investigadores independientes. Estos valores de prevalencia son representativos solamente de las poblaciones probadas y pueden variar de la prevalencia encontrada en áreas específicas de los Estados Unidos.



3145

Tabla 5
Prevalencia del VPH de alto riesgo * en varias poblaciones
Mujeres con 30 años de edad y mayores

Ubicación	Período de estudio	Tamaño del estudio	Prevalencia (%)
EE.UU. Portland, OR ^{6, 23, 42}	1989-1999	13,493	9.0
Costa Rica ^{40, 43}	1993-1995	6991	8.7
Sudáfrica ⁴⁴	1998-1999	2925	23.4
China ⁴⁵	1999	1940	18.8
Francia ⁴⁶	1998-2002	2115	4.8
Alemania ⁴⁷	1999-2000	7592	4.2

* Cualquier combinación de los 13 tipos de alto riesgo detectados por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS PARA TAMIZAR PACIENTES CON RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU DE ASC-US PARA DETERMINAR LA NECESIDAD DE REFERENCIA A COLPOSCOPIA

Se condujo un estudio intitulado «Utility of HPV DNA Testing for Triage of Women with Borderline Papanicolaou Smears» (Utilidad de las pruebas de ADN del VPH para la selección de mujeres con exámenes de Papanicolaou limítrofes) en 1996 bajo la dirección del Kaiser Foundation Research Institute (Instituto de Investigación de la Fundación Kaiser) y el Kaiser Permanent Medical Group (Grupo Médico Permanente Kaiser). Se obtuvieron especímenes cervicales para la prueba de Papanicolaou rutinaria y para la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 de mujeres que asistieron a varios complejos clínicos Kaiser. Se evaluaron las pruebas de Papanicolaou iniciales de acuerdo con la clasificación Bethesda. Las mujeres (de 15 años de edad o mayores) con resultados de la prueba de Papanicolaou de ASC-US regresaron por colposcopia y biopsia. Los especímenes histológicos dirigidos colposcópicamente fueron examinados por patólogos y se hizo un diagnóstico inicial. Cada espécimen histológico también fue revisado por un patólogo independiente y las discrepancias entre la revisión inicial y la revisión independiente fueron adjudicadas por un tercer patólogo.

Se realizó la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 en el espécimen inicial. Se realizaron las pruebas de ADN del VPH con un prototipo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 que contenía sondas para los 11 de los 13 tipos de VPH incluidos en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2, mas no contenía sondas para los tipos de VPH 59 y 68. No se esperaba que esta diferencia diera como resultado perfiles de desempeño significativamente diferentes para los dos ensayos.

Estuvieron disponibles resultados y diagnósticos histológicos de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 de 885 mujeres con exámenes de Papanicolaou de ASC-US. Se realizaron las pruebas en la mayoría de las pacientes con especímenes recolectados tanto en STM como en la solución PreservCyt. Debido a las similitudes entre las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para STM y la solución PreservCyt, se presenta el desempeño del ensayo solamente para la solución PreservCyt.

La tabla 6 muestra que entre aquellas que se presentaban con un examen de Papanicolaou de referencia de ASC-US, el valor predictivo negativo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para tener HSIL o enfermedad mayor en colposcopia es del 99.0%.

Tabla 6
Comparación de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 versus histología de consenso
Población de Papanicolaou de referencia de ASC-US
Estudio Kaiser

Prueba de ADN del VPH de alto riesgo <i>digene</i> HC2	Especímenes de solución PreservCyt		Total
	NIC 2-3 ó cáncer en el momento de colposcopia		
	+	-	
+	66	317	383
-	5	497	502
Total	71	814	885

Sensibilidad [TP/(TP+FN)] = 93.0% (66/71)

IC del 95% = 84.3 to 97.7

Especificidad [TN/(TN+FP)] = 61.1% (497/814)

IC del 95% = 57.7 a 64.4

Prevalencia de la enfermedad = 8.0% (71/885)

Valor predictivo positivo del ensayo = 17.2% (66/383)

Valor predictivo negativo del ensayo = 99.0% (497/502)

La tabla 7 muestra los valores predictivos positivos y negativos teóricos con base en varios resultados de prevalencia para un ASC-US inicial que se encuentra en ser NIC 2-3 ó cáncer con base en los resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Tabla 7
Valores predictivos positivos y negativos teóricos
Prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2
Resultados del examen de Papanicolaou de ASC-US

Prevalencia teórica para NIC 2-3 ó cáncer	Resultado del examen de Papanicolaou de ASC-US inicial	
	Valor predictivo positivo del ensayo	Valor predictivo negativo del ensayo
5	11.2	99.4
10	21.0	98.7
15	29.7	98.0
20	37.4	97.2
25	44.3	96.3
30	50.6	95.3

La tabla 8 ilustra la variación entre los distintos grupos de edad contenidos en este estudio:

Tabla 8
Datos del estudio Kaiser
Desempeño de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 versus resultados histológicos de consenso (NIC 2-3)
Características específicas de la edad

	Edad < 30	Edad 30 - 39	Edad >39
N	287	233	365
Prevalencia de la enfermedad (%)	12.2	11.2	2.7
Sensibilidad (%)	100.00 (35/35)	88.46 (23/26)	80.00 (8/10)
Intervalo de confianza del 95%	90.0-100	69.9-97.6	44.4-97.5
Especificidad (%)	31.4 (79/252)	66.2 (137/207)	79.15 (281/355)
Intervalo de confianza del 95%	25.7-37.5	59.3-72.6	74.6-83.3
Valor predictivo negativo (%)	100 (79/79)	97.86 (137/140)	99.29 (281/283)
Valor predictivo positivo (%)	16.63 (35/208)	24.73 (23/93)	9.76 (8/82)

EN MUJERES DE 30 AÑOS DE EDAD Y MAYORES, DESEMPEÑO DE TAMIZAJE DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO *digene* HC2 COMO ADYUVANTE A LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU PARA AYUDAR A GUIAR EL CONTROL DE PACIENTES

Desempeño de la prueba en especímenes clínicos

Aunque no se realizó ningún estudio clínico específicamente para soportar el uso de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 como adyuvante a la prueba de Papanicolaou, en comparación con la prueba de Papanicolaou sola, datos consistentes obtenidos de múltiples estudios sección cruzada y cohorte prospectivos conducidos con una variedad de métodos de muestreo celular y utilizando la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 y varios métodos de pruebas de uso de investigación proporcionan evidencia de que una prueba de ADN del VPH negativa implica un riesgo muy bajo de NIC 2-3 ó cáncer prevalente o incipiente cuando los resultados de Papanicolaou son normales (WNL).^{4, 23, 42-45}

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Estudio Interno usando ADN plasmídico

Se probó un panel no clínico de ADN plasmídico de VPH clonado para determinar si cada uno de los 13 tipos de VPH es detectable por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 y para determinar la sensibilidad analítica del ensayo para cada uno de los tipos de VPH. Se corrió cada concentración blanco del VPH (blancos de 100 pg/mL, 10 pg/mL, 2.5 pg/mL, 1.0 pg/mL, 0.5 pg/mL y 0.2 pg/mL de cada uno de los 13 tipos de ADN del VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) por triplicado. Se calculó y comparó la señal promedio (en unidades relativas de luz, URL) para cada concentración de cada tipo de VPH con el HRC.F.

Se muestra el límite detectable de cada tipo de VPH en la tabla 9. Los límites detectables variaron de 0.62 pg/mL a 1.39 pg/mL dependiendo del tipo de VPH probado. Todos los tipos de VPH fueron detectables en un

nivel estimado de 1.08 pg de blanco de ADN del VPH por 1 mL del espécimen. El límite detectable promedio de los 13 tipos de ADN del VPH fue de 1.08 pg/mL con una desviación estándar de 0.05 pg/mL.

Tabla 9
Resumen de los límites detectables de sensibilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 para cada tipo de ADN del VPH detectable

Tipo de ADN del VPH	Concentración de ADN del VPH detectable (pg/mL)	Desviación estándar	Rango de confianza del 95%
16	1.09	0.06	0.94 - 1.29
18	1.05	0.05	0.88 - 1.29
31	1.01	0.05	0.91 - 1.16
33	1.35	0.02	1.26 - 1.45
35	1.11	0.05	0.95 - 1.31
39	1.39	0.09	1.16 - 1.71
45	1.14	0.04	0.99 - 1.35
51	0.78	0.10	0.70 - 0.88
52	1.37	0.06	1.21 - 1.58
56	0.62	0.04	0.58 - 0.67
58	0.82	0.04	0.73 - 0.94
59	1.10	0.06	1.00 - 1.21
68	1.19	0.04	1.03 - 1.39
Promedio (todos los tipos)	1.08	0.05	0.95 - 1.25

Nota: También se han validado clínicamente estos niveles de detección analítica para la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2; no obstante, puede correlacionarse pobremente el desempeño analítico con el desempeño clínico si hay una atención inadecuada dedicada a establecer un umbral correcto para resultados positivos, particularmente para métodos de pruebas moleculares con alta sensibilidad analítica. Se ha declarado recientemente en la literatura publicada que un umbral bajo parece existir bajo cuyos niveles de infección por VPH no se asocian a la enfermedad cervical, dejando la detección en tales niveles clínicamente irrelevantes. Este estudio concluyó además que es importante hacer una clara distinción entre infecciones por VPH de alto riesgo clínicamente relevantes e irrelevantes cuando se consideren pruebas de VPH para programas de tamizaje de cáncer cervical.⁵⁰

Estudio externo usando especímenes clínicos

Nota: Se proporciona la siguiente información para fines analíticos solamente para demostrar que la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 detecta los trece tipos de VPH para los cuales se diseñó y no infiere ninguna correlación con el desempeño clínico.

Además de los datos plasmídicos de VPH creados y mostrados anteriormente, se evaluó la habilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 en detectar ADN del VPH de alto riesgo de especímenes clínicos archivados caracterizados por PCR específica por tipo. En un estudio conducido por CIAGEN y el Instituto Nacional de Cáncer (National Cancer Institute) (NCI) que involucró 209 especímenes PreservCyt, un método de prueba de reacción en cadena de polimerasas (PCR) del VPH específico del tipo de uso de investigación fue utilizado por NCI para determinar la concordancia con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Se seleccionaron los especímenes específicamente para demostrar la detección de los trece tipos de VPH de alto riesgo reconocidos por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Se usó el resultado de la PCR de NCI como el único determinante para la presencia de ADN de VPH. De los 209 especímenes, la proporción de resultados PCR negativos que fueron positivos por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 fue de 31/56. Contrariamente, la proporción de resultados PCR positivos que fueron negativos por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 fue de 5/153 (véase la tabla 10 a continuación). Cuando se analizó de esta manera, se observó una concordancia del 82.8% general (173/209; IC del 95% = 77.0-87.6) entre los métodos y una concordancia positiva y negativa del 96.7% y 44.6%, respectivamente (IC del 95% = 92.5-98.9 y 31.3-58.5).



Tabla 10

Detección analítica del ADN del VPH comparando la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con la PCR específica del tipo de VPH

Prueba de ADN del VPH de alto riesgo <i>digene</i> HC2		PCR		
		Positiva	Negativa	Total
	Positiva	148	31	179
	Negativa	5	25	30
	Total	153	56	209

Cuando se compararon los métodos de prueba descritos anteriormente, se usó la PCR como indicador de detección de ADN del VPH. No obstante, el desempeño de la prueba de PCR analítica puede variar enormemente debido a una falta de normalización del método de prueba y asuntos inherentes que se sabe que afectan el desempeño del método de PCR. Además, se condujo este estudio antes de la introducción de una modificación de procedimiento a la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 que demostró una reproducibilidad del ensayo mejorada alrededor del corte de la prueba y una reducción en los resultados del VPH falsos positivos aparentes debido a una posible variabilidad relacionada con la técnica cuando se realiza la prueba con especímenes recolectados en PreservCyt.

EQUIVALENCIA ENTRE STM Y ESPÉCIMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVCYT

Se examinó la equivalencia entre STM y los especímenes de la solución PreservCyt para una recuperación igual del ADN 18 del VPH de aproximadamente 106 células HeLa positivas que contenían 18 genomas del VPH integrados adicionados en STM y en una reunión celular negativa en la solución PreservCyt. Se procesó cada tipo de espécimen de acuerdo con sus procedimientos respectivos de procesamiento/desnaturalización descritos en estas instrucciones de uso y analizados con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Los resultados demostraron que la recuperación del ADN 18 de VPH de células de carcinoma humano es equivalente para los dos medios y que el procedimiento de la preparación de la solución PreservCyt no afecta la sensibilidad analítica de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.

REPRODUCIBILIDAD

Se realizó un estudio de reproducibilidad multicéntrico para determinar los días intermedios, los lugares intermedios y la reproducibilidad general de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 usando un panel de blancos del ADN del VPH y los especímenes clínicos VPH positivos y VPH negativos.

Tres laboratorios externos realizaron las pruebas con el mismo lote de los kits de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 en tres distintos días con un panel idéntico de reproducibilidad. El panel de reproducibilidad incluyó los siguientes especímenes: 12 reuniones de especímenes de STM clínicos desnaturalizados; tres reuniones de especímenes de solución PreservCyt clínicos no desnaturalizados; calibrador negativo; y calibrador positivo del VPH de alto riesgo en concentraciones de 0.5 pg/mL, 1 pg/mL, 2.5 pg/mL, 5 pg/mL y 10 pg/mL. Se analizó a todos los miembros del panel cada día por triplicado. Se muestran los resultados en la tabla 11.

Tabla 11

Resumen de la estadística general para la reproducibilidad multicéntrica de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2

Medida estadística	Sonda de VPH de alto riesgo ^a
Proporción de positivos esperados con un resultado positivo observado	100% (99.0-100.0)
Proporción de negativos esperados con un resultado negativo observado	99.0% (97.49-99.73)
Concordancia	99.5% (98.70-99.85)
Kappa	0.990

^a Los números en paréntesis indican intervalos de confianza del 95%. Los datos generales son una combinación de todos los ensayos en todos los lugares.

Esto indica que es muy buena la reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 con especímenes clínicos.

Se realizó un segundo estudio usando especímenes simulados de la solución PreservCyt y conducidos en dos laboratorios externos y QIAGEN. Cada laboratorio de análisis realizó dos ensayos de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 por día en cinco días distintos. Para cada ensayo, se procesó y probó individualmente un panel de reproducibilidad de seis especímenes simulados de la solución PreservCyt por cuadruplicado. Se formuló cada miembro del panel adicionando células cultivadas en la solución PreservCyt para producir un valor de URL/CO aproximado simulando dos negativos (1N, 2N), dos positivos bajos (3P, 4P), un positivo mediano (5P) y un positivo alto (6P). Se muestran los resultados en la tabla 12.

Tabla 12

Resumen de la estadística general para la reproducibilidad multicéntrica para especímenes de la solución PreservCyt usando la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2

Especímen	N	URL/CO promedio	Intervalo de confianza del 95%	VPH positivo n (%)	VPH negativo n (%)
1N	120	0.17	0.01 - 0.33	0 (0.0)	120 (100.0)
2N	120	0.18	0.03 - 0.33	0 (0.0)	120 (100.0)
Negativo total	240			0 (0.0)	240 (100.0)
3P	120	4.97	3.46 - 6.48	120 (100.0)	0 (0.0)
4P	120	5.14	3.43 - 6.85	120 (100.0)	0 (0.0)
5P	120	33.1	19.47 - 46.73	120 (100.0)	0 (0.0)
6P	120	239.6	175.42 - 303.78	120 (100.0)	0 (0.0)
Positivo total	480			480 (100.0)	0 (0.0)

Se realizó un estudio de reproducibilidad interno adicional usando los especímenes PreservCyt clínicos obtenidos predominantemente de 252 mujeres con citología de ASC-US o mayor (57% de prevalencia del VPH). Se dividieron los especímenes en dos partes alícuotas; posteriormente se procesó individualmente cada parte alícuota usando el kit de conversión de muestras *digene* HC2 y luego se procesó por duplicado con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Como con otros IVD cualitativos, la variabilidad de los resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 obtenidos de los especímenes clínicos se asocia principalmente a uno o una combinación de lo siguiente: 1) recolección de especímenes; 2) procesamiento de especímenes antes del análisis; y 3) el procedimiento de pruebas. Dado que los resultados de las pruebas bajo comparación se obtuvieron de la misma muestra clínica, el diseño experimental no fue controlado debido a la variabilidad de la toma de muestra. La reproducibilidad de los resultados obtenidos de dos partes alícuotas de especímenes procesados individualmente del mismo espécimen clínico (referidas como «Entre partes alícuotas procesadas») refleja la variación debido a la combinación del procesamiento de la conversión de especímenes de PC y el procedimiento de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. En contraste, la reproducibilidad de los resultados duplicados obtenidos de la misma parte alícuota de especímenes procesados (referidos como «Dentro de la parte alícuota procesada») refleja la variación del procedimiento solo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Se muestran los resultados en la tabla 13.

Tabla 13

Resumen de la reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 Especímenes PreservCyt, citología de ASC-US o mayor

Reproducibilidad	Concordancia positiva (n/N) IC del 95%	Concordancia negativa (n/N) IC del 95%	Concordancia general (n/N) IC del 95%
Dentro de una parte alícuota procesada	97.59 (283/290) 95.09 - 99.02	94.39 (202/214) 90.41 - 97.07	96.23 (485/504) 94.18 - 97.72
Entre partes alícuotas procesadas	98.62 (265/269) 96.49 - 99.62	94.88 (204/215) 91.03 - 97.42	97.02 (489/504) 95.14 - 98.32

Ya que cada espécimen en el estudio generó cuatro resultados de la prueba, había un volumen insuficiente remanente para permitir una segunda prueba de especímenes en el área de re-prueba de la región de corte definida, por lo tanto, la tabla 12 presenta los datos iniciales solamente. En la tabla 13, se tabulan los resultados de este estudio donde solamente los resultados fuera de la región de corte de 1.0 a 2.5 URL/CO se consideran en el análisis. Se esperaba que un usuario del ensayo que empleaba el algoritmo de re-prueba de la región de corte dado en la sección Interpretación de los resultados de los especímenes de estas instrucciones de uso obtuviese resultados entre aquéllos vistos en las tablas 13 y 14.

MARISOL MASINO
BIOQUÍMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Tabla 14
Resumen de la reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 de los resultados de la prueba < 1.0 ó ≥ 2.5 URL/CO

Reproducibilidad	Especímenes PreservCyt, citología de ASC-US o mayor		
	Concordancia positiva (n/N) IC del 95%	Concordancia negativa (n/N) IC del 95%	Concordancia general (n/N) IC del 95%
Dentro de una parte alicuota procesada	99.26 (268/270) 97.35-99.91	99.51 (202/203) 97.29 - 99.99	99.37 (470/473) 98.16 - 99.87
Entre partes alicuotas procesadas	99.62 (265/266) 97.92-99.99	99.03 (204/206) 96.54 - 99.68	99.36 (469/472) 98.15 - 99.87

También se condujo un estudio clínico multicéntrico para estimar la contribución adicional del muestreo de especímenes cervicales para la variabilidad de resultados de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Se resumen estos resultados en la tabla 15. Se tomaron los especímenes PreservCyt usados en conjunto de cada paciente, se procesaron de forma separada usando el kit de conversiones de muestras *digene* HC2 y posteriormente se probaron de modo separado. También se recolectaron y probaron de forma separada los especímenes STM usados en conjunto. Se recolectaron los especímenes de pacientes femeninas que asistían a una clínica de obstetricia y ginecología, clínica de colposcopia, clínica de enfermedades sexualmente transmisibles, hospital o centro de planificación familiar. Cuatro lugares geográficamente diversos dentro de los Estados Unidos recolectaron los especímenes PreservCyt, y todos los especímenes STM se recolectaron de una población separada de múltiples clínicas en el área metropolitana de San Diego. Se realizaron pruebas en cuatro laboratorios de EE.UU. acreditados. Se interpretaron los resultados para cada espécimen como se recomendó, esto es, las pruebas de especímenes PC emplearon un algoritmo de re-prueba de la región de corte en el rango de 1.0 a 2.50 URL/CO, mientras que los resultados de la prueba inicial se compararon para los especímenes STM.

Nota: Estos datos no son equivalentes a los resultados clínicos falsos positivos o falsos negativos debido a la naturaleza del diseño del estudio usado en conjunto, el cual valora la concordancia de pruebas de especímenes duplicados.

Tabla 15
Reproducibilidad de las pruebas de especímenes usados conjuntamente del ADN del VPH clínicas

Tipo de espécimen	Prevalencia del VPH	Concordancia positiva (n/N) IC del 95%	Concordancia negativa (n/N) IC del 95%	Concordancia general (n/N) IC del 95%
STM (inicial)	29.2%	92.15 (270/293) 88.45 - 94.96	97.89 (665/710) 96.54 - 98.81	96.21 (965/1003) 94.84 - 97.31
PC (con algoritmo de re-prueba)	19.0%	88.37 (190/215) 83.31 - 92.33	97.53 (910/933) 96.20 - 98.35	95.82 (1099/1148) 94.40 - 96.83

Estos resultados reflejan la variabilidad asociada a la recolección de especímenes, además de la variabilidad debido al procesamiento de especímenes y al procedimiento del ensayo. Una inspección posterior de estos resultados reveló que se concentró la variabilidad de resultados en la región de corte del ensayo. Cuando se incluían solamente especímenes que producían resultados fuera de la región de corte en el análisis, la concordancia positiva para los especímenes PC se incrementa al 94.0% mientras que la concordancia negativa se incrementa al 99.4%; si bien de forma similar para los especímenes de STM, los valores de concordancia positivos y negativos se incrementan al 97.5% y 99.6%, respectivamente.

REACTIVIDAD CRUZADA

PANEL DE REACTIVIDAD CRUZADA

Se ensayó una batería de bacterias, virus y plásmidos comúnmente encontrada en el tracto anogenital femenino, así como también una recolección de los tipos cutaneotrópicos del VPH para los cuales estuvieron disponibles clones, para determinar si ocurriría una reactividad cruzada con las sondas del VPH usadas en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2. Se ensayaron todos los microorganismos en concentraciones de 105 y 107 organismos por mL. Se ensayó el ADN purificado de virus y plásmidos en una concentración de 4 ng por mL.

A continuación se encuentra una lista de las bacterias analizadas. Todas las bacterias probaron ser negativas en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.

Acinetobacter anitratus
Acinetobacter lwoffii (ATCC 17908)
Bacteroides fragilis (ATCC 25265)
Bacteroides melanogenicus
Candida albicans (ATCC 14053 o 10231)
Chlamydia trachomatis
Enterobacter cloacae
Escherichia coli (HB101)*
Escherichia coli
Fusobacterium nucleatum
Gardnerella vaginalis
Haemophilus ducreyi
Klebsiella pneumoniae
Lactobacillus acidophilus
Mobiluncus curtisi
Mobiluncus mulieris

* Se ensayaron tanto la cepa de *E. coli* usada para cultivar plásmidos (HB101) como un aislado clínico de *E. coli*.

A continuación se encuentra una lista del ADN viral o plasmídico o suero humano probado:

Adenovirus 2	Virus del papiloma humano tipo 1
Citomegalovirus	Virus del papiloma humano tipo 2
Virus Epstein-Barr	Virus del papiloma humano tipo 3
Suero antigénico de superficie de hepatitis B positivo	Virus del papiloma humano tipo 4
Herpes simplex I	Virus del papiloma humano tipo 5
Herpes simplex II	Virus del papiloma humano tipo 8
Virus de inmunodeficiencia humana (VIH, ADN de RT)	Virus del papiloma humano tipo 13
Virus simio tipo 40 (SV40)	Virus del papiloma humano tipo 30 pBR322

El único plásmido que mostró una reactividad cruzada en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 fue pBR322. Se espera una reactividad cruzada entre pBR322 y la sonda de VPH de alto riesgo porque es difícil quitar todo el ADN del vector pBR322 cuando se aísla el inserto del VPH. Se ha reportado la presencia de secuencias homólogas de pBR322 en especímenes genitales humanos, y podrían ocurrir resultados falsos positivos en presencia de niveles altos de plásmido bacteriano. No obstante, 298 especímenes clínicos que probaron ser positivos con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 mostraron que no se debieron los resultados positivos a pBR322 cuando se probaba con una sonda de pBR322. Así, parece baja la probabilidad del resultado falso positivo de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 debido a las secuencias de pBR322 homólogas en los especímenes clínicos.

HIBRIDACIÓN CRUZADA

Se probaron dieciocho tipos distintos de VPH (riesgo alto y bajo) con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 en concentraciones de 4 ng/mL de ADN del VPH. Todos los blancos de VPH de alto riesgo fueron positivos con la sonda de VPH de alto riesgo. Este estudio también mostró que hay una pequeña cantidad de hibridación cruzada entre los tipos de VPH 6 y 42 y la sonda de VPH de alto riesgo. Pueden ser falsamente positivos los especímenes de pacientes con niveles altos (4 ng/mL o más alto) de ADN de VPH 6 ó VPH 42 con la prueba de ADN del VPH de alto riesgo. La significancia clínica de esto es que las pacientes con 4 ng/mL o más alto de ADN de VPH 6 ó VPH 42 pueden ser remitidas innecesariamente a colposcopia.

También se ha demostrado que la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 reacciona de manera cruzada con los tipos de VPH 40, 53 y 66. Estos tipos son raros y existe insuficiente evidencia para establecer la correlación exacta entre la infección con estos tipos y el desarrollo de la enfermedad de alto grado.



3145

EFFECTO DE LA SANGRE Y OTRAS SUSTANCIAS EN ESPECIMENES DE STM

Se evaluó el efecto de la sangre y otras sustancias definidas o indefinidas potencialmente interferentes en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2. Se adicionaron sangre total, ducta vaginal, crema antifúngica y jalea anticonceptiva (agentes que se pueden encontrar comúnmente en especímenes cervicales) a los especímenes STM negativos y positivos (resultados de especímenes clínicos y especímenes no clínicos) en concentraciones que pueden encontrarse en especímenes cervicales. No se observaron resultados falsos positivos con ninguno de los cuatro agentes en ninguna concentración. No obstante, puede reportarse un resultado falso negativo en especímenes clínicos con niveles de ADN del VPH cercanos a aquel del corte positivo para el ensayo (1 pg/mL) si estaban presentes niveles altos de crema antifúngica o jalea anticonceptiva. No obstante, es muy improbable que un espécimen clínico consista casi en su totalidad de una de estas sustancias porque se desecha la costra inmediatamente antes de obtener los especímenes para el examen del Papanicolaou y para las pruebas de VPH.

EFFECTO DE LA SANGRE Y OTRAS SUSTANCIAS EN LOS ESPECIMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVICYT

Se evaluó el efecto de la sangre y otras sustancias definidas o indefinidas potencialmente interferentes potencialmente presentes en los especímenes clínicos de la solución PreservCyt en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2. Se adicionaron sangre total, ducta vaginal, crema antifúngica y jalea anticonceptiva (agentes que se pueden encontrar comúnmente en especímenes cervicales) a las reuniones de especímenes clínicos solución PreservCyt negativos y positivos en concentraciones que pueden encontrarse en especímenes cervicales. No se observaron resultados falsos positivos o falsos negativos con ninguno de los cuatro agentes en ninguna concentración. Además, sustancias inherentes en algunos especímenes clínicos no inhiben la detección del ADN del VPH por la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2.

REPRODUCIBILIDAD DE LA PRUEBA DEL ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO digene HC2 CON ESPECIMENES CLÍNICOS RECOLECTADOS EN STM

Se determinó la reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2 con especímenes clínicos recolectados en STM en un estudio que usaba 20 reuniones clínicas (diez positivas y diez negativas) preparadas combinando especímenes cervicales de cuello previamente desnaturalizados y probadas recolectadas en STM. Se probaron los especímenes en duplicados de cuatro en cada uno de cinco días para un total de 20 duplicados por espécimen. Se realizaron las pruebas usando un tubo de sondas combinado consistente en la sonda de VPH de alto riesgo y la sonda de VPH de bajo riesgo. Se calcularon el promedio, la desviación estándar y el intervalo de confianza del 95% acerca del promedio (IC) para cada espécimen dentro del día y durante cinco días y se muestran los resultados en la tabla 16 a continuación. No se esperaba que la reproducibilidad del ensayo difiera cuando se use solamente la sonda de tipo VPH de alto riesgo en esta IC.

Tabla 16
URLCO promedio con intervalos de confianza y porcentaje positivo

No.	URLCO promedio con intervalos de confianza y porcentaje positivo		IC	% positivos
	Orden descendente por URLCO promedio	URLCO promedio		
1	10	1.18	3.02 - 3.35	100 (20/20)
2	20	1.43	1.36 - 1.50	100 (20/20)
3	11	1.25	1.20 - 1.29	100 (20/20)
4	12	1.21	1.15 - 1.27	100 (20/20)
5	15	1.20	1.14 - 1.25	100 (20/20)
6	13	1.07	1.01 - 1.11	80 (16/20)
7	16	1.06	1.01 - 1.09	75 (15/20)
8	17	1.04	1.00 - 1.06	80 (16/20)
9	14	0.98	0.92 - 1.02	45 (9/20)
10	18	0.92	0.87 - 0.96	20 (4/20)
11	19	0.72	0.68 - 0.75	0 (0/20)
12	7	0.40	0.33 - 0.46	0 (0/20)
13	4	0.38	0.35 - 0.39	0 (0/20)
14	9	0.37	0.32 - 0.41	0 (0/20)
15	1	0.35	0.31 - 0.37	0 (0/20)
16	2	0.35	0.31 - 0.37	0 (0/20)
17	6	0.32	0.29 - 0.34	0 (0/20)
18	3	0.30	0.27 - 0.31	0 (0/20)
19	5	0.27	0.24 - 0.30	0 (0/20)
20	8	0.26	0.23 - 0.28	0 (0/20)

Para los cinco especímenes con un URLCO promedio en el 20% ó más por encima del corte (Nos. 1-5), 100 de 100 duplicados (100.0%) eran positivos. Para los cinco especímenes con un URLCO promedio dentro del 20% por encima o por debajo del corte del ensayo (Nos. 6-10), 60 de 100 (60%), IC del 95% = 49.7-69.6) de los duplicados fueron positivos y 40 de 100 (40%) fueron negativos. Para los 10 especímenes con el URLCO promedio en más del 20% por debajo del corte del ensayo, 20 de 200 duplicados (100%) fueron negativos. Así, los especímenes con un URLCO promedio del 20% ó más por encima del corte fueron positivos, 100% del tiempo, mientras que los especímenes con un URLCO promedio del 20% ó más por debajo del corte fueron negativos 100% del tiempo, indicando que puede esperarse que los especímenes en el 20% ó más lejos del corte produzcan resultados consistentes. Los especímenes cercanos al corte produjeron aproximadamente números iguales de resultados positivos y negativos. Estos datos demuestran que los especímenes de STM producen resultados reproducibles en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2.

REPRODUCIBILIDAD DE LOS ESPECIMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVICYT EN LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO digene HC2

Se determinó la reproducibilidad de especímenes clínicos en la solución PreservCyt en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2 en un estudio que usaba 24 especímenes de simulación en una concentración que abarca un rango de concentraciones del ADN del VPH. Los especímenes consistieron en la solución PreservCyt y leucocitos, con y sin bacterias que conllevan plásmido de VPH 16. Se probaron los especímenes en duplicados de cuatro en cada uno de cinco días, para un total de 20 duplicados por espécimen. En cada uno de los cinco días del estudio, se procesó y probó una parte alícuota de 8 mL de cada espécimen de acuerdo con las instrucciones de uso del kit de convenciones de muestras digene HC2. Se calcularon el promedio, la desviación estándar y el intervalo de confianza del 95% (IC) para cada espécimen dentro del día y durante los cinco días y duplicados. Se muestran el URLCO promedio, el intervalo de confianza acerca del promedio y el porcentaje de los duplicados positivos a continuación en la tabla 17 para cada espécimen, en orden descendente con base en el URLCO promedio.

MARISOL MASINO
QUIMICA
TECNICAS

Handwritten signature

Handwritten signature

Tabla 17
URL/CO promedio con intervalos de confianza y porcentaje positivo
(Orden descendente por URL/CO promedio)

No.	# espec.	URL/CO promedio	IC	% positivo
1	21	3.81	3.19 - 3.83	100 (20/20)
2	12	1.89	1.48 - 1.89	100 (20/20)
3	13	1.42	1.32 - 1.52	100 (20/20)
4	17	1.38	1.23 - 1.53	80 (18/20)
5	18	1.36	1.23 - 1.48	95 (19/20)
6	15	1.32	1.16 - 1.49	85 (17/20)
7	23	1.17	1.06 - 1.27	75 (15/20)
8	16	1.14	1.07 - 1.20	75 (15/20)
9	20	1.10	0.88 - 1.21	85 (17/20)
10	19	1.06	0.95 - 1.17	45 (9/19)
11	22	1.05	0.89 - 1.10	70 (14/20)
12	11	1.04	0.96 - 1.11	65 (13/20)
13	14	0.94	0.86 - 1.01	25 (5/20)
14	24	0.77	0.73 - 0.81	0 (0/20)
15	3	0.28	0.25 - 0.30	0 (0/20)
16	1	0.27	0.24 - 0.30	0 (0/20)
17	7	0.27	0.25 - 0.30	0 (0/20)
18	2	0.27	0.25 - 0.28	0 (0/20)
19	5	0.26	0.24 - 0.28	0 (0/20)
20	4	0.24	0.22 - 0.25	0 (0/20)
21	9	0.23	0.21 - 0.25	0 (0/20)
22	8	0.22	0.18 - 0.27	0 (0/20)
23	10	0.22	0.20 - 0.25	0 (0/20)
24	6	0.19	0.17 - 0.21	0 (0/20)

Para los seis especímenes con un URL/CO promedio en el 20% ó más por encima del corte (Nos. 1-6), 114 de 120 duplicados (95.0%) fueron positivos. Para los siete especímenes con un URL/CO promedio dentro del 20% por encima o por debajo del corte del ensayo (Nos. 7-13), 88 de 139 (63.3%; IC del 95% = 54.3 - 70.9) de los duplicados fueron positivos y 51 de 139 (36.6%) fueron negativos. Para los 11 especímenes con el URL/CO promedio en más del 20% por debajo del corte del ensayo, 220 de 220 duplicados (100%) fueron negativos.

Así, los especímenes con un URL/CO promedio del 20% ó más por encima del corte fueron positivos mayor al 95% del tiempo, mientras que los especímenes con un URL/CO promedio del 20% ó más por debajo del corte fueron negativos 100% del tiempo, indicando que puede esperarse que los especímenes en el 20% ó más lejos del corte produzcan resultados consistentes. Los especímenes cercanos al corte produjeron aproximadamente números iguales de resultados positivos y negativos. Estos datos demuestran que especímenes de la solución PreservCyt producen resultados reproducibles en la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2.


REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. Human papillomaviruses. En: Belshe RB, editor. Textbook of Human Virology. Littleton, MA: PSG-Wright; 1984. pp 951-68.
- Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* Abril de 2002;55(4):244-55.
- Gaarenstroom KN, Melkert P, Walboomers JMM, van den Brule AJC, van Bommel PFJ, Meijer CJLM, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst ThJM. Human papillomavirus DNA and genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1994;4:73-8.
- Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* Diciembre de 2001;286(24):3106-14.
- Nobbenhus MAE, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EKJ, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJLM. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* Julio de 1999;354(1):20-5.
- Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR, Rush BB, Demuth F, Schiffman M. Absolute risk of a subsequent abnormal Pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer* Noviembre de 2002;95(10):2145-51.
- Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* Marzo de 2000;92(6):464-74.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJF, Meijer CJLM, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* Febrero de 2003;348(5):518-27.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Meheus A. The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1992.
- Remmink AJ, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EKJ, Meijer CJLM, Kenemans P. The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995;61:306-11.
- Lorincz AT, Quinn AP, Lancaster WD, Temple GF. A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. *Virology* 1987;159:187-90.
- Meyer T, Arndt R, Christophers E, Beckmann E-R, Schroder S, Gissmann L, Stockfleth E. Association of rare human papillomavirus types with genital premalignant and malignant lesions. *J Infect Dis* Julio de 1998;178(1):252-5.
- Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* Marzo de 1992;79(3):328-37.
- Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV, International Biologic Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* Junio de 1995;87(11):796-802.
- Shimoda K, Lorincz AT, Temple GF, Lancaster WD. Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol* 1988;69:2925-8.
- Volpers C, Streeck RE. Genome organization and nucleotide sequence of human papillomavirus type 39. *Virology* Marzo de 1991;181(1):419-23.
- Matsukura T, Sugase M. Molecular cloning of a novel human papillomavirus (type 58) from an invasive cervical carcinoma. *Virology* Agosto de 1990;177(2):833-6.
- Rho J, Roy-Burman A, Kim H, de Villiers E-M, Matsukura T, Choe J. Nucleotide sequence and phylogenetic classification of human papillomavirus type 59. *Virology* 1994;203:158-61.
- Longuet M, Beauvion S, Orth G. Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. *J Clin Microbiol* Marzo de 1996;34(3):738-44.
- Stewart A-CM, Gravitt PE, Cheng S, Wheeler CM. Generation of entire human papillomavirus genomes by long PCR: frequency of errors produced during amplification. *Genome Res* 1995;5(1):79-88.
- Schiffman MH. Latest HPV findings: some clinical implications. *Contemporary OB/GYN* Octubre de 1993;27-41.
- Stellato G, Nieminen P, Aho H, Vesterinen E, Vahen A, Paavonen J. Human papillomavirus infection of the female genital tract: correlation of HPV DNA with cytologic, colposcopic, and natural history findings. *Eur J Gynaec Oncol* 1992;13(3):262-7.



3145

- 23 Koutsky LA, Holmes KK, Crtchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, DeRouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* Octubre de 1992;327(18):1272-8
- 24 Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* Febrero de 1998;338(7):423-8.
- 25 Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG, Mielzynska-Lohnas I, Rush BB, Schiffman M. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* Enero de 2003;95(1):46-52.
- 26 Yitalo N, Josefsson A, Melbye M, Sorensen P, Frisch M, Andersen PK, Sørensen P, Gustafsson M, Magnusson P, Ponten J, Gyllenstein U, Adami H-O. A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma *in situ*. *Cancer Res* Noviembre de 2000;60(21):6027-32.
- 27 Wallin K-L, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, Halimans G, Dillner J. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* Noviembre de 1999;341(22):1633-8.
- 28 van der Graaf Y, Molijn A, Doornwaard H, Quint W, van Doorn L-J, van den Tweel J. Human papillomavirus and the long-term risk of cervical neoplasia. *Am J Epidemiol* Julio de 2002;156(2):158-64.
- 29 Petry KU, Bohmer G, Iftner T, Davies P, Brummer O, Kuhnle H. Factors associated with an increased risk of prevalent and incident grade III cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer among women with Papanicolaou tests classified as grades I or II cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* Enero de 2002;186(1):28-34.
- 30 Hopman EH, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Walboomers JMM, Kenemans P, Helmerhorst ThJM. High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *Br J Obstet Gynaecol* Mayo de 2000;107:600-4.
- 31 Woodman CBJ, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, Yates M, Rotason TP. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* Junio de 2001;357(9271):1831-6
- 32 Zielinski GD, Snyders PJF, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Runsink AP, de Schipper FA, Meijer CJLM. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: long-term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol* Octubre de 2001;195(3):300-6.
- 33 Rozendaal L, Walboomers JMM, van der Linden JC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst ThJM, van Ballegooijen M, Meijer CJLM. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer* Diciembre de 1996;68(6):768-9.
- 34 Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* Agosto de 1987;36(suppl. 2S):3S-17S.
- 35 Sehulster LM, Hollinger FB, Dreesman GR, Melnick JL. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Environ Microbiol* Noviembre de 1981;42(5):762-7.
- 36 Martin LS, McDougal JS, Loskoski SL. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* Agosto de 1985;152(2):400-3
- 37 Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Statistical quality control for quantitative measurements: principles and definitions; approved guideline-second edition. 2a ed. Wayne, PA: CLSI/NCCLS; 1999.
- 38 Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, Landesman SH. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996;23(4):333-41.
- 39 Vernon SD, Unger ER, Williams D. Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and Hybrid Capture. *J Clin Microbiol* Febrero de 2000;38(2):651-5.
- 40 Castle PE, Schiffman M, Burk RD, Wacholder S, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, Sherman ME, Lorincz A. Restricted crossreactivity of Hybrid Capture 2 with non-oncogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* Noviembre de 2002;11:1394-9.
- 41 Franco EL, Villa LL, Sobnino JP, Prado JM, Rousseau M-C, Desy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* Noviembre de 1999;180(5):1415-23
- 42 Liaw K-L, Glass AG, Manos MM, Greer CE, Scott DR, Sherman M, Burk RD, Kurman RJ, Wacholder S, Rush BB, Cadell DM, Lawler P, Tabor D, Schiffman M. Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst* Junio de 1999;91(11):954-60.
- 43 Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, Alfaro M, Hutchinson M, Morales J, Greenberg MD, Lorincz AT. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* Enero de 2000;283(1):87-93.
- 44 Wright TC, Jr., Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* Enero de 2000;283(1):81-6.
- 45 Belinson J, Qiao YL, Pretorius R, Zhang WH, Elson P, Li L, Pan QJ, Fischer C, Lorincz A, Zahniser D, Shaoh Province cervical cancer screening study. a cross-sectional comparative trial of multiple techniques to detect cervical neoplasia. *Gynecol Oncol* Noviembre de 2001;83(2):439-44
- 46 Bory J-P, Cucherousset J, Lorenzato M, Gabriel R, Quareux C, Birembaut P, Clavel C. Recurrent human papillomavirus infection detected with the hybrid capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions: a longitudinal study of 3,091 women. *Int J Cancer* Diciembre de 2002;102(5):519-25.
- 47 Petry K-U, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, Schopp B, Garbrecht-Buettner S, Davies P, Boehmer G, van den Akker E, Iftner T. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8468 patients. *Br J Cancer* Mayo de 2003;88(10):1570-7.
- 48 Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, Koutsky LA. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* Octubre de 2002;288(14):1749-57.
- 49 Ratnam S, Franco EL, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* Septiembre de 2000;9(9):945-51.
- 50 Snijders Peter JF, van den Brule Adrian JC, Meijer Chris LJM. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship entre analytical and clinical sensitivity. *J Path* 2003; 201: 1-6.


MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.



GUÍA DE IDENTIFICACIÓN Y SOLUCIÓN DE PROBLEMAS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO *digene* HC2

Observación	Probables causas	Soluciones
Cambio de color inapropiado o nulo observado durante la desnaturalización.	Reactivo de desnaturalización no adicionado, o reactivo de desnaturalización no preparado apropiadamente	Verifique que el reactivo de desnaturalización contenga el colorante indicador y sea de un color púrpura oscuro Verifique que se adicionó el reactivo de desnaturalización al espécimen midiendo el volumen de espécimen (se espera 1.5 mL). Si el volumen indica que no se adicionó el reactivo de desnaturalización haga la adición apropiada, mezcle y proceda con el ensayo si se observa entonces el cambio de color apropiado.
	El espécimen contiene sangre u otros materiales que ocultan el cambio de color	No se espera el cambio de color exacto descrito con estos tipos de especímenes; no deberán afectarse de manera adversa los resultados de prueba del ensayo.
	Puede ser anormalmente ácido el pH del espécimen.	Si ninguna de las otras causas se aplica, puede ser anormalmente ácido el espécimen y no ocurrirá el cambio de color esperado. Recólecte un espécimen nuevo antes de la aplicación de ácido bórico a la sonda porque el pH del espécimen inapropiado afectará de forma adversa los resultados de la prueba.
Los controles dan resultados incorrectos	Protocolo del software incorrecto escogido para la prueba (Vg., protocolo LR usado para el método HR)	Si el protocolo del software es incorrecto para la prueba que se está realizando, deberá leerse de nuevo dentro de 30 minutos después de la adición del reactivo de detección 2 y con el protocolo correcto
	Colocación reversa de OC1-LR y OC2-HR	Volver a probar los especímenes.
Cambio de color inapropiado observado durante la hibridación.	Mezcla inadecuada del cóctel de sondas con controles de calidad y/o especímenes desnaturalizados; o, cóctel de sondas no adicionado, o, volumen incorrecto del reactivo adicionado.	Agite la microplaca de hibridación o la gradilla de microtubos por 2 minutos adicionales. Si hay pozos que todavía quedan púrpuras, adicione 25 µL adicionales del cóctel de sondas apropiado y mezcle bien. Si en la adición y remezcla de la sonda no ocurre el cambio de color apropiado y el espécimen o contiene sangre u otros materiales, vuelva a probar el espécimen.
	El espécimen contiene sangre u otros materiales que ocultan el cambio de color.	No se espera el cambio de color exacto descrito con estos tipos de especímenes; no deberán afectarse de manera adversa los resultados de prueba del ensayo
	El espécimen tenía < 1000 µL de STM.	Verifique el volumen del espécimen original. El volumen deberá ser 1425 µL ± 20 µL (después de quitar 75 µL para la sonda de VPH de alto riesgo). Si el volumen es < 1425 µL, el espécimen original contenía < 1000 µL de STM. Obtenga un espécimen nuevo.
El ensayo falla los criterios de validación. No se observa ninguna señal en el calibrador, controles de calidad o en los especímenes.	No se adiciona ninguna sonda al cóctel de la sonda	Prepare el cóctel de sondas como se describe en las instrucciones de uso. Etiquete los tubos cuidadosamente.
	Sonda contaminada con RNasa durante la preparación	Use puntas de pipeta con barrera de aerosol cuando pipeteo la sonda y use guantes. Dikya la sonda en contenedores estériles. Usualmente use reservorios de reactivos desechables limpios y nuevos
	Mezcla inadecuada de la sonda y del diluyente de la sonda.	Después de adicionar la sonda al diluyente de la sonda, mezcle completamente pasando por vórtices a alta velocidad durante por lo menos 5 segundos. Debe producirse un vórtice visible.
	Mezcla inadecuada de la sonda diluida y del espécimen desnaturalizado.	Después de adicionar el cóctel de sondas y el espécimen a cada micropozo o microtubo de hibridación, agite en el agitador giratorio (puesto a 1100 ± 100 rpm por 3 a 2 minutos. Verifique el cambio de color de púrpura a amarillo en cada tubo o pozo)
	Tiempo o temperatura incorrectos durante la etapa de hibridación.	Hibride por 60 ± 5 minutos a 65 ± 2° C. Verifique la temperatura del calentador de microplacas o el baño maría de hibridación. Asegúrese de que el calentador de microplacas esté puesto para calentar especímenes para corregir la temperatura y sea precalentado por 60 minutos antes de su uso. Asegúrese de que el nivel de agua sea el adecuado para calentar los especímenes a la temperatura correcta. Deberán calibrarse periódicamente los baños marías.
	Mezcla inadecuada durante la etapa de captura.	Agite en el agitador giratorio I por 60 ± 5 minutos a 20-25° C como se describe en las instrucciones de uso. Verifique la velocidad del agitador giratorio I a través de una calibración, como se resume en la sección Calibración de la velocidad del agitador del manual del operador del agitador giratorio I.
	No agregar la cantidad correcta del reactivo de detección 1 ó inocular por un tiempo especificado	Pipeteo 75 µL del reactivo de detección 1 en cada pozo usando una pipeta de 8 canales. Incube a 20-25° C por 30 a 45 minutos.
No agregar la cantidad correcta del reactivo de detección 2 ó inocular por un tiempo especificado	Pipeteo 75 µL del reactivo de detección 2 en cada pozo usando una pipeta de 8 canales. Incube a 20-25° C por 15 a 30 minutos.	
Mal funcionamiento del luminómetro o programación incorrecta.	Remítase a las secciones de mantenimiento/servicio y de identificación y solución de problemas en la guía de usuario del software de análisis de ensayos <i>digene</i> aplicable para más instrucciones, o llame a QIAGEN Technical Services (servicio técnico).	

Observación	Probables causas	Soluciones
Valores elevados de URL en los calibradores, controles de calidad y/o especímenes (2 200 URL en muchos o todos los pozos). El ensayo puede fallar en los criterios de validación.	Reactivo de desnaturalización no adicionado, o volumen incorrecto de reactivo adicionado, o mezcla inadecuada de reactivo de desnaturalización con calibradores, controles de calidad, o especímenes	Verifique que la pipeta repelidora esté suministrando exactamente antes de adicionar el reactivo de desnaturalización. Las pipetas calibradas son esenciales. Adicione un volumen medio de reactivo de desnaturalización a cada tubo y mezcle bien. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Los calibradores, controles de calidad y especímenes deberán tomarse púrpura después de la adición del reactivo de desnaturalización.
	Filtración de luz en el luminómetro.	Realice una lectura de fondo (medición de datos preliminares) del luminómetro leyendo una microplaca vacía. Una lectura de más de 50 URL indica que puede existir una filtración de luz. Remítase a las secciones de mantenimiento/servicio y de identificación y solución de problemas en la guía de usuario del software de análisis de ensayos <i>digene</i> aplicable para más instrucciones, o llame a QIAGEN Technical Services (servicio técnico).
	Puerta no sellada	Remítase a la Verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Sello alrededor de la puerta rota	Remítase a la Verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Contaminación del reactivo de detección 2 o micropozos de captura por el reactivo de detección 1 o fosfatasa alcalina exógena.	Remítase a la Verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Solución amortiguadora de lavado contaminada	Remítase a la Verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Lavador de placas automatizado contaminado	Remítase a la Verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Lavado inadecuado de los micropozos de captura después de la incubación del reactivo de detección 1.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado 6 veces. Menando los pozos para tener un sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado. No debe haber ningún líquido rosa residual visible en los pozos después del lavado. Vea el Manual del operador del lavador de placas automatizado para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamiento.
	Contaminación de micropozos del reactivo de detección 1.	Asegúrese de que todas las superficies de trabajo estén limpias y secas. Tenga cuidado cuando use el reactivo de detección 1. Evite aerosoles.
	Solución de hibridación de secado en la misma área de la toalla Kimtowels o toallas de papel con poca pelusa equivalente	No vuelva a secar en el área previamente usada de la toalla Kimtowels.
Toallas de secado incorrectas usadas	Use toallas Kimtowels o toallas de papel con poca pelusa equivalentes para el secado	
Material del control de calidad del VPH de alto riesgo usado. El ensayo falla la razón de HRC / NC de validación > 15.	Asegure la colocación correcta de los materiales de calibración positiva y de control de calidad	
Razones de PC/NC bajas o número alto de especímenes positivos bajos con razones < 2.0 (p-20%). El ensayo puede fallar en los criterios de validación.	Preparación inadecuada de especímenes.	Agregue el volumen apropiado de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente a través de la colocación en vórtices. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna del tubo tanto con el método manual como con el de MST Vortexer (para el método de Vortexer manual, invierta el tubo una vez). Para especímenes de la solución PreservCyt, asegúrese de que esté completa una mezcla apropiada y una resuspensión del pellet celular previo a la incubación de desnaturalización. Consulte las instrucciones de uso del kit de conversiones de muestras <i>digene</i> HC2 para los detalles del protocolo. Deberá verse un cambio de color distinto de púrpura claro a oscuro. Incube por 45 a 5 minutos a 65 ± 2° C.
Sonda inadecuadamente mezclada o sonda insuficiente adicionada a los ensayos.	Prepare el cóctel de sondas como se describe. Mezcle completamente a través de vórtices asegurándose de que se produzca un vórtice visible. Debe adicionarse el cóctel de sondas a los tubos con una pipeta de desplazamiento positiva o pipeta de canales múltiples para asegurar un suministro exacto.	
Volumen inadecuado de la sonda diluida adicionada a cada micropozo o microtubo de hibridación	Verifique que la pipeta repelidora esté suministrando de forma exacta antes de la adición del cóctel de sondas a las microplacas de hibridación o microtubos. Deberán agregarse 25 µL de sonda diluida al espécimen desnaturalizado en el fondo de cada micropozo o microtubo. Verifique que la pipeta de 8 canales esté suministrando de forma exacta antes de la adición del cóctel de sondas a los pozos de hibridación. El cambio de color deberá ser de púrpura oscuro a amarillo en la adición y durante toda la mezcla del cóctel de sondas. Los especímenes de la solución PreservCyt deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.	
Pérdida de la actividad del reactivo de detección 1.	Conservar el reactivo de detección 1 a 2-8° C. Use antes de la fecha de caducidad en el marbete de la caja exterior del kit.	
Captura insuficiente.	Deberá realizarse la etapa de captura usando el agitador giratorio I puesto a 1100 ± 100 rpm por 60 ± 2 minutos. Valide la velocidad del agitador giratorio I a través de una calibración.	
Lavado inadecuado.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado 6 veces. Menando los pozos para tener un sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado.	



314

Observación	Probables causas	Soluciones
Razones de PC/NC bajas o número alto de especímenes positivos < 2.0 (> 20%). El ensayo puede fallar en los criterios de validación. (continuación)	Solución amortiguadora de lavado contaminada. Solución amortiguadora de lavado contaminada (continuación).	Si no está contaminado el reactivo de detección 2, verifique la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado a 75 µl del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura vacío. Cubra e incube por 15 minutos a 20-25° C. Lea el micropozo en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación. Véase la sección <i>Preparación y almacenamiento de reactivos</i> para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado. Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamiento.
Serie de especímenes positivos con valores de URL aproximadamente iguales.	Contaminación de los micropozos de captura durante la manipulación del ensayo. Contaminación del reactivo de detección 2. Fallo del lavador de placas automatizado.	Cubra la microplaca de captura durante todas las incubaciones. Evite exponer los tubos a contaminación de aerosol mientras realiza el ensayo. Use guantes libres de polvo durante las manipulaciones. Tenga cuidado en no contaminar el stock cuando pipeteo el reactivo de detección 2 en los micropozos de captura. Evite la contaminación del reactivo de detección 2 por aerosoles del reactivo de detección 1 o del polvo del laboratorio, etc. Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamiento.
NCV amplios entre duplicados.	Pipeteo inexacto. Mezcla insuficiente. Transferencia incompleta del líquido de los micropozos o microtubos de hibridación a los micropozos de captura. Condiciones inapropiadas de lavado. Contaminación de micropozos del reactivo de detección 1.	Verifique la pipeta para asegurarse de que se estén suministrando los volúmenes reproducibles. Calibre las pipetas de forma rutinaria. Mezcle completamente en todas las etapas. Coloque un vórtice previo a la incubación de desnaturalización y después de adicionar el cóctel de sondas. Asegúrese de que se produzca un vórtice visible. Tenga cuidado durante la etapa de transferencia de los micropozos o microtubos de hibridación a los micropozos de captura para asegurar que se transfieran los volúmenes reproducibles. Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado 6 veces, llenando hasta el sobreflujado cada vez o usando el lavador de placas automatizado y los protocolos del lavador de placas automatizado. Asegúrese de que todas las superficies de trabajo estén limpias y secas. Tenga cuidado cuando use el reactivo de detección 1. Evite aerosoles.
Resultados falsos positivos obtenidos de especímenes negativos conocidos.	Reactivo de detección 2 contaminado. Contaminación de micropozos del reactivo de detección 1. Contaminación de punta de pipeta con material no desnaturalizado durante la transferencia del espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas del VPH. Durante la decantación y secado de la placa de captura, se secó la placa en la misma área de las toallas Kantowels o toallas de papel con poca presión equivalentes. Preparación inadecuada de especímenes. Condiciones inapropiadas de lavado.	Tenga cuidado de no contaminar de forma cruzada los especímenes conforme divida en partes alícuotas el reactivo de detección 2 entre especímenes. Si solamente usa parte de un kit, divida en partes alícuotas el volumen necesario para ese ensayo en un reservorio de reactivo desechable limpio antes de llenar la pipeta. Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado 6 veces, llenando hasta el sobreflujado cada vez o usando el lavador de placas automatizado. No debe haber ningún líquido rosa residual visible en los micropozos después del lavado. Debe realizarse la etapa de desnaturalización del procedimiento de procesamiento del espécimen como es instruido en estas instrucciones de uso. Una colocación de especímenes, inversión y agitación de tubos incorrectos pueden dar como resultado una desnaturalización incompleta de los híbridos de ARNAAD no específicos análogos a los especímenes cervicales. Cuando use especímenes de la solución PreservCyt en particular, estos híbridos tienen la probabilidad de estar presentes en las paredes internas del tubo de desnaturalización de especímenes. Con el fin de prevenir un posible desplazamiento de este material celular no desnaturalizado, la micropunta de la pipeta no debe tocar los costados del tubo de desnaturalización de especímenes durante la transferencia del espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas del VPH. No seque en el área que se ha usado previamente ya que podría ocurrir una contaminación cruzada. Agregue el volumen apropiado de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente a través de la colocación en vórtice. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna del tubo tanto con el método manual como con el de MST Vortexer (para el método de vórtice manual, invierta el tubo una vez). Para especímenes de la solución PreservCyt, asegúrese de que estén completas la mezcla y resuspensión apropiadas del pellet celular previo a la incubación de desnaturalización. Consulte las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras de HCV para los detalles del protocolo. Para todos los especímenes, deberá verse un cambio de color distinto al púrpura oscuro. Incube por 45 a 5 minutos a 65 a 2° C. Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado 6 veces, llenando los pozos a sobreflujado cada vez o usando el lavador de placas automatizado y los protocolos apropiados del lavador de placas automatizado.

Observación	Probables causas	Soluciones
Valores de URL negativos del calibrador elevado (> 200 URL). El resto del ensayo se desempeña como lo esperado.	Se incubó el reactivo de detección 2 a una temperatura mayor a 20-25° C. Se incubó el reactivo de detección 2 más de 30 minutos. Se contaminó el reactivo de detección 2 o la solución amortiguadora de lavado con fosfatos alcalinos o reactivo de detección 1.	Repita la prueba y asegúrese de que las etapas de captura y detección se incuben a 20-25° C. Lea la placa después de 15 minutos de incubación (y no más de 30 minutos de incubación) a 20-25° C. Verifique el reactivo de detección 2 dividido en partes alícuotas por contaminación pipeteando 75 µl en un micropozo de captura vacío, incube a 20-25° C por 15 minutos y lea en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación del reactivo de detección 2. Tenga cuidado cuando pipeteo el reactivo de detección 2. Use guantes y evite tocar las puntas para cualquier superficie de trabajo. Repita el procedimiento de identificación y solución de problemas en el vital maestro del reactivo de detección 2, y si no está contaminado, repita el ensayo usando este material. Si está contaminado, obtenga un kit nuevo y repita el ensayo. Si no está contaminado el reactivo de detección 2, verifique la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pipeteo 10 µl de la solución amortiguadora de lavado en 75 µl del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura vacío. Cubra e incube por 15 minutos a 20-25° C. Lea el micropozo en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Véase la sección <i>Preparación y almacenamiento de reactivos</i> para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado.

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N. 9483
DT - TECNO LAB S.A.

VERIFICACIÓN DE CONTAMINACIÓN

<p>Nota: Tenga cuidado cuando pipeteo el reactivo de detección 2 para evitar contaminación. Use guantes y evite tocar las puntas de pipetas en cualquier de las superficies de trabajo.</p>		
Reactivo evaluado	Procedimiento de verificación de contaminación	Interpretación de resultados
<p>Reactivo de detección 2</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µL del vial de reactivo de detección 2 dividido en partes alícuotas, residual u original en un micropozo de captura vacío. Incuba a 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa. Lea en los micropozos en el luminómetro. <p>Nota: Probar el reactivo de detección 2 en duplicados de 3 proporciona una valoración óptima de desempeño.</p>	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 deberá ser < 50 URL. Si los valores del reactivo de detección 2 son < 50 URL, puede usarse el reactivo de detección 2 para repetir el ensayo. Si está contaminado (>50 URL), obtenga un kit nuevo y repita el ensayo.
<p>Lave el aparato de la solución amortiguadora y/o la fuente de agua</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µL de reactivo de detección 2 en 3 pozos separados de microplaca de captura. Etiquete los pozos 1-4. El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2. Pipeteo 10 µL de la solución amortiguadora de lavado de la botella de lavado al pozo 2. Deje que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de la tubería del lavador. Pipeteo 10 µL de la solución amortiguadora de lavado de la tubería al pozo 3. Obtenga una parte alícuota del agua usada para preparar la solución amortiguadora de lavado. Pipeteo 10 µL del agua al pozo 4. Incuba a 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa. Lea los micropozos en el luminómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser < 50 URL. Compare el valor de URL de los pozos 2, 3 y 4 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3 y 4 no deberán exceder 50 URL del valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican contaminación. Véase la sección <i>Preparación y almacenamiento de reactivos</i> para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado.
<p>Lavador de placas automatizado</p>	<ul style="list-style-type: none"> Pipeteo 75 µL de reactivo de detección 2 en 5 pozos separados de microplaca de captura. Etiquete los pozos 1-5. El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2. Pipeteo 10 µL de la solución amortiguadora de lavado de la botella del lavador de placas etiquetada Wash (Lavar) en el pozo 2. Pipeteo 10 µL del líquido de enjuague de la botella del lavador de placas etiquetada Rinse (Enjuagar) en el pozo 3. Presione la tecla Prime (Iniciar) en el teclado del lavador de placas, dejando que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de las líneas. Pipeteo 10 µL de la solución amortiguadora de lavado del abrevadero al pozo 4. Presione la tecla Rinse (Enjuagar) en el teclado del lavador de placas, dejando que fluya el líquido de enjuague a través de las líneas. Pipeteo 10 µL de la solución amortiguadora de lavado del abrevadero al pozo 5. Cubre e incuba por 15 minutos a 20-25° C. Evite la luz solar directa. Lea los micropozos en el luminómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser < 50 URL. Compare el valor de URL de los pozos 2, 3, 4 y 5 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3, 4 y 5 no deberán exceder 50 URL del valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican una contaminación del lavador de placas. Véase <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado, procedimiento de descontaminación</i>.

INFORMACIÓN DE PEDIDOS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH DE ALTO RIESGO *digene* HC2. REACTIVOS, ACCESORIOS Y EQUIPO

Reactivos

- Prueba de ADN del VPH de alto riesgo «*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test» [96 pruebas REF 5199-1220 (kit de 1 placa)]
- Prueba de ADN del VPH de alto riesgo «*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test» [384 pruebas REF 5199-00016 (kit de 4 placas)]
- Dispositivo de recolección de ADN «*digene* HC2 DNA Collection Device»
- Kit de conversión de muestras «*digene* HC2 Sample Conversion Kit»
- Concentrado de solución amortiguadora de lavado «*digene* Wash Buffer Concentrate»
- Solución «HOLOGIC PreservCyt Solution»

Accesorios

- Microtubos
- Gradilla de microtubos
- Selladores de placas
- Puntas de pipeta «extralargas»
- Gradilla de tubos de recolección de especímenes
- Tapa rosca de tubos de recolección de especímenes
- Reservorios de reactivos desechables
- Tubos de recolección de especímenes
- Tapas de microplacas
- Gradilla de tubos de especímenes múltiples y tapa
- Gradilla de conversión y tapa
- Gradilla de especímenes y tapa «*digene* Specimen Rack and Lid»
- Sellador de tubos de películas DuraSeal
- Dispensador del sellador de tubos y cúter del sellador
- Microplacas de hibridación
- Tiras para micropozos

Equipo

- Luminómetro
- Sistema PC
- Cable de impresora
- Impresora
- CD del software del sistema *digene* Hybrid Capture 2 (con software del sistema *digene* Hybrid Capture 2, protocolos para VPH del ensayo del sistema *digene* Hybrid Capture 2, software para placas LumiCheck)
- Agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture
- Catentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture
- Lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture
- Tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2
- Aparato de lavado
- Sistema Rapid Capture [opcional, pero requerido para el uso de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo *digene* HC2 [REF 5199-00016 (kit de 4 placas)]



INFORMACIÓN DE CONTACTO

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

Use la hoja de información de contacto de QIAGEN proporcionada con el producto para ponerse en contacto con QIAGEN Technical Services (servicios técnicos) o su representante local de QIAGEN.

MARCAS REGISTRADAS Y PATENTES

QIAGEN®, *digene*®, Hybrid Capture®, Rapid Capture® (QIAGEN Group); Parafilm® (BEMIS Company, Inc.), Corning® (Corning Incorporated); DuraSeal® (Diversified Biotech); Eppendorf®, Repeater® (Eppendorf AG); Kimwipes® (Kimberly-Clark Corporation), CDP-Star® (Life Technologies Corporation), Excel®, Microsoft® (Microsoft Corporation), PreservCyt®, ThinPrep® (Hologic, Inc.), pGEM® (Promega Corp), Sarstedt® (SARSTEDT AG & Co), VWR® (VWR International, Inc.)

Las marcas registradas, marcas comerciales, etc., usadas en este documento, incluso cuando no se marquen específicamente como tales, deben considerarse protegidas por la ley.

Este producto y su método de uso están cubiertos por una o más de las siguientes patentes:

Patente de Hybrid Capture de EE.UU.
6,228,578

Patentes de HPV de EE.UU.
5,876,922 • 5,952,487 • 5,958,674 • 5,981,173

© 2012–2015 QIAGEN, todos los derechos reservados.

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

Resumen de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo «digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test»

Importante: es importante familiarizarse completamente con el procedimiento detallado antes de usar este resumen.

Procedimiento		
Desnaturalización (Para especímenes de solución PreservCyt, véase el procedimiento de preparación de especímenes de solución PreservCyt)	<p>Método de vórtice manual</p> <ul style="list-style-type: none"> ▼ Cree la distribución de la placa. Etiquete los microtubos de hibridación. ▼ Pipeteo el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen del espécimen) en calibradores, controles de calidad y especímenes. Coloque en vórtice cada calibrador, control de calidad y espécimen individualmente por 5 segundos a alta velocidad e invierta (véase el prospecto para detalles). ▼ Verifique que todos los tubos muestren un color púrpura. ▼ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos. ▼ Prepare la mezcla de sondas de VPH. 	<p>Método de tubos de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2</p> <ul style="list-style-type: none"> ▼ Cree la distribución de las placas. Etiquete la placa de hibridación. Prepare el reactivo de desnaturalización. ▼ Pipeteo el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen de espécimen) en calibradores, controles de calidad y especímenes. Verifique que todos los tubos muestren un color púrpura. ▼ Cubra la gradilla con película y tapa. ▼ Coloque en vórtice por 10 segundos a máxima velocidad. ▼ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos. ▼ Prepare la mezcla de sondas del VPH.
Hibridación	<p>Método de baño maría</p> <ul style="list-style-type: none"> ▼ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien y pipeteo 75 µL de calibrador control de calidad o espécimen desnaturalizado en los microtubos de hibridación. ▼ Incube por 10 minutos a 20-25° C. ▼ Pipeteo 25 µL de la mezcla de sondas del VPH de alto riesgo en los microtubos. ▼ Cubra los microtubos con un sellador de placas y agite en el agitador giratorio 1 a 100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Verifique que todos los tubos muestren un color amarillo (los especímenes de la solución PreservCyt se tomarán rasas). ▼ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. ▼ Prepare la microplaca de captura. 	<p>Método de calentador de microplacas 1</p> <ul style="list-style-type: none"> ▼ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien y pipeteo 75 µL del calibrador control de calidad o espécimen desnaturalizado en los pozos de microplacas. ▼ Incube por 10 minutos a 20-25° C. ▼ Pipeteo 25 µL de la mezcla de sondas del VPH de alto riesgo en los pozos de microplacas. ▼ Cubra la microplaca con una tapa para placas y agite en el agitador giratorio 1 a 100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Verifique que todos los pozos muestren un color amarillo (los especímenes de la solución PreservCyt se tomarán rasas). ▼ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. ▼ Prepare la microplaca de captura.
Captura híbrida	<ul style="list-style-type: none"> ▼ Pase el contenido de cada pozo de placa de hibridación o microtubo al pozo correspondiente en la microplaca de captura usando una pipeta de 8 canales. ▼ Cubra con una tapa para placas o toldador de placas. Agite a 100 ± 100 rpm a 20-25° C por 60 ± 5 minutos. Prepare la solución amortiguadora de lavado. ▼ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles). 	
Detección híbrida	<p>Pipeteo 75 µL de reactivo de detección 1 en cada micropozo de captura. Cubra la microplaca de captura con una tapa para placas o Parafilm o equivalente. Incube a 20-25° C por 30-45 minutos. Lave la placa usando el método deseado.</p>	
Lavado	<p>Método de lavado manual</p> <ul style="list-style-type: none"> ▼ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles). ▼ Lave 4 veces. ▼ Seque en toallas de papel con poca pelusa. 	<p>Método de lavador de placas automatizado</p> <p>Coloque la placa en el lavador de placas automatizado y presione START/STOP (Iniciar/Parar) para comenzar.</p>
Amplificación de señales	<p>Pipeteo 75 µL del reactivo de detección 2 en cada micropozo de captura. Cubra con una tapa para placas o sellador de placas. Incube a 20-25° C por 15-30 minutos.</p>	
Lectura	<ul style="list-style-type: none"> ▼ Lea la microplaca de captura en el luminómetro. ▼ Valide el ensayo e interprete los resultados de los especímenes. 	






fr

Consignes relatives à la sécurité et aux risques pour la santé

Les phrases de risques et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du kit de *digene* Wash Buffer Concentrate :

Wash Buffer Concentrate

 Contient: Sodium azide. Attention! Nocif en cas d'ingestion. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer le contenu/réceptacle dans une installation d'élimination des déchets agréée.

Informations complémentaires

Fiches de données de sécurité : www.qiagen.com/safety


Pour des instructions détaillées sur les performances du test, se reporter aux notices techniques respectives des tests ADN *digene* HC2.

Le tampon de lavage concentré (Wash Buffer Concentrate), apposé du marquage CE, répond aux exigences de la Directive européenne relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro 98/79/CE.

pt

Declarações de segurança e risco para componentes
As seguintes frases de risco e segurança aplicam-se aos componentes do kit do *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

 Contém: Sodium azide. Atenção! Nocivo por ingestão. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos.

Mais informações

Fichas de dados de segurança: www.qiagen.com/safety

Consulte os folhetos da embalagem do respectivo *digene* HC2 DNA Test para obter instruções pomenorizadas sobre o desempenho do ensaio.


A marca CE indica que o tampão de lavagem concentrado (Wash Buffer Concentrate) está em conformidade com os requisitos da Directiva relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico in vitro 98/79/CE.

it

Dichiarazioni di sicurezza e di rischio relative ai componenti

Le seguenti frasi di rischio e di sicurezza si applicano ai componenti del kit del *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

 Contiene: Sodium azide. Attenzione! Nocivo se ingerito. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato.

Ulteriori informazioni

Schede di sicurezza: www.qiagen.com/safety

Per istruzioni dettagliate sulle prestazioni dei dosaggi consultare gli inserti dei test *digene* HC2 del DNA.


Il marchio CE indica che il tampone di lavaggio concentrato (Wash Buffer Concentrate) è conforme ai requisiti della direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

sv

Skydds- och riskfraser för komponenter

Följande risk- och skyddsfraser gäller för komponenter i *digene* Wash Buffer Concentrate.

Wash Buffer Concentrate

 Innehåller: Sodium azide. Varning! Skadligt vid förtäring. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Undvik utsläpp till miljön. Innehållet/ behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

Ytterligare information

Säkerhetsdatablad: www.qiagen.com/safety


Se bipacksedlarna till *digene* HC2 HPV DNA-testerna för detaljerade instruktioner om analysutförandet.

CE-märkningen visar att tvättbuffertkoncentratet (Wash Buffer Concentrate) uppfyller kraven i det europeiska direktivet 98/79/EG om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik.

nl

Veiligheids- en risicozinnen voor componenten
De volgende risico- en veiligheidszinnen zijn van toepassing op componenten van de *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

 Bevat: Sodium azide. Waarschuwing! Schadelijk bij inslikken. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. Voorkom lozing in het milieu. Inhoud/ verpakking afvoeren naar een erkend afvalverwerkingsbedrijf.

Overige informatie

Safety Data Sheets (Veiligheidsinformatiebladen): www.qiagen.com/safety


Raadpleeg de bijsluiters van de betreffende *digene* HC2 DNA Test voor uitgebreide instructies over testprestaties.

De CE-markering geeft aan dat het wasbufferconcentraat (Wash Buffer Concentrate) voldoet aan de eisen van de Europese richtlijn betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitro diagnostiek (98/79/EG).

tr

Bileşenler için güvenlik ve risk ifadeleri
digene Wash Buffer Concentrate kiti bileşenleri için aşağıdaki risk ve güvenlik ifadeleri geçerlidir:

Wash Buffer Concentrate

 İçerir: Sodium azide. Uyarı! Yutulması halinde zaraftır. Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zaraftır. Çevreye yayılmasını önleyiniz. İçerik/ kabı onaylanmış atık atım tesisine atınız.














Ek bilgi

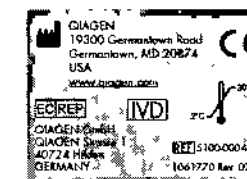
Güvenlik Veri Sayfaları: www.qiagen.com/safety

Testin gerçekleştirilmesiyle ilgili ayrıntılı talimatlar için ilgili *digene* HC2 DNA Test ambalajındaki prospektüslere bakın.

CE işareti, Yıkama Tampon Konsantrisinin 98/79/EC sayılı In Vitro Diagnostik Medikal Cihaz Yönergesinin gereklilikleriyle uyumlu olduğunu göstermektedir.

digene[®] Wash Buffer Concentrate

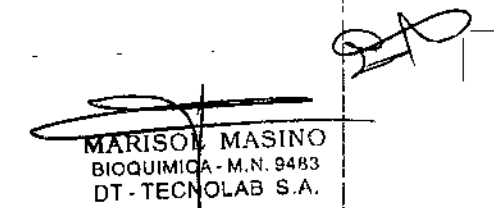
-  Use only in conjunction with *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Používejte jenom spolu s testy *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Må udelukkende anvendes sammen med *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Nur zur Verbindung mit *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests verwenden
-  Χρησιμοποιείτε μόνο σε συνδυασμό με τις δοκιμασίες DNA *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Utilicelo únicamente con *digene*[®] Hybrid Capture DNA Tests
-  Käytetään ainoastaan yhdessä *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA -testien kanssa
-  Utiliser uniquement en conjonction avec les tests *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Usare solo unitamente ai *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Alleen gebruiken in combinatie met *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Utilizar apenas em conjunto com os *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Använd endast tillsammans med *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Tests
-  Yalnızca *digene*[®] Hybrid Capture 2 DNA Testleriyle birlikte kullanın



www.qiagen.com



tecnolab s.a.
 estomba 964 . c1427cov
 capital federal . argentina
 tel. 54 11 4555 0010
 54 11 4859 5300
 fax 54 11 4553 3331
 info@tecnolab.com.ar
 www.tecnolab.com.ar
 ISO 9001:2008 cada



MARISOL MASINO
 BIOQUIMICA - M.N. 9483
 DT - TECNO LAB S.A.

3145



en

Safety and risk statements for components

The following risk and safety phrases apply to components of *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

Contains. Sodium azide. Warning! Harmful if swallowed. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid release to the environment. Dispose of contents/ container to an approved waste disposal plant.

Further information

Safety Data Sheets: www.qiagen.com/safety

Refer to the respective *digene* HC2 DNA Test package inserts for detailed instructions on assay performance.

The CE mark indicates that the Wash Buffer Concentrate is in compliance with the requirements of the In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/EC.

el

Τι δηλώσεις ασφάλειας και κινδύνου για τα συστατικά Για τα συστατικά του κιτ δοκιμίας *digene* Wash Buffer Concentrate εφαρμόζονται οι ακόλουθες φράσεις κινδύνου και ασφάλειας:

Wash Buffer Concentrate

Περιέχει: Sodium azide. Προσοχή! Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. Να αποφευχθεί η ελευθέρωση στο περιβάλλον. Διαθέστε τα περιεχόμενα/ περιέκτη σε εγκεκριμένη μονάδα διάθεσης αποβλήτων.

Περαισσότερες πληροφορίες

Δελτία δεδομένων ασφάλειας: www.qiagen.com/safety

Για λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με την απόδοση της δοκιμίας ανατρέξτε στα ένθετα της συσκευασίας της δοκιμίας *digene* HC2 DNA.

Η σήμανση CE υποδηλώνει ότι το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (Wash Buffer Concentrate) ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 98/79/ΕΕ σχετικά με τα ιατροτεχνολογικά βοηθήματα που χρησιμοποιούνται στη διάγνωση In Vitro.

cs

Prohlášení ohledně bezpečnosti a rizik komponent Pro komponenty sady *digene* Wash Buffer Concentrate platí následující R-věty a S-věty:

Wash Buffer Concentrate

Obsahuje: Sodium azide. Varování! Zdraví škodlivý při požití. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zabraňte uvolnění do životního prostředí. Odstraňte obsah/ obalu v zařízení schváleném pro likvidaci odpadů.

Další informace

Bezpečnostní listy: www.qiagen.com/safety

Pro podrobnější informace o provedení testu nahlédněte do příbalových instrukcí, které jsou součástí balení jednotlivých testů *digene* HC2 DNA.

Označení CE znamená, že koncentrovaný promývací pufr (Wash Buffer Concentrate) splňuje požadavky směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro.

es

Frases sobre seguridad y riesgo en relación con los componentes

Las siguientes frases sobre riesgo y seguridad son aplicables a los componentes del kit *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

Contiene. Sodium azide. Atención! Nocivo en caso de ingestión. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Información adicional

Fichas de datos de seguridad www.qiagen.com/safety

Consulte las instrucciones detalladas sobre la realización del ensayo en las instrucciones de uso del test *digene* HC2 de ADN correspondiente.

La marca CE indica que el tampón de lavado concentrado (Wash Buffer Concentrate) cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro.

da

Sikkerheds- og risikosætninger for komponenter Følgende risiko- og sikkerhedsætninger gælder for komponenterne i *digene* Wash Buffer Concentrate:

Wash Buffer Concentrate

Indeholder: Sodium azide. Advarsel! Førlig ved indtagelse. Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. Undgå udledning til miljøet. Indholdet/ beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsmodtagelesanlæg.

Yderligere oplysninger:

Sikkerhedsdatablade: www.qiagen.com/safety

Der henvises til de behørlige *digene* HC2 DNA-testpakkers indlægssedler for udførlige oplysninger om analysedeevne.

CE-mærkningen angiver, at vaskebufferkoncentrat (Wash Buffer Concentrate) opfylder kravene i direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til In Vitro diagnostik.

fi

Kitin osien turva- ja vaaralausekkeet

Seuraavat vaara- ja turvalausekkeet koskevat *digene* Wash Buffer Concentrate osia:

Wash Buffer Concentrate

Sisältää: Sodium azide. Varoitus! Haitallista nieltynä. Haitallista vesieläimille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. Vältettävä päästämistä ympäristöön. Sisältö/ astia on toimitettava hävitettäväksi hyväksytyyn jätteenkäsittelylaitokseen.

Lisätietoja

Käyttöturvallisuuksiedotteet: www.qiagen.com/safety

Kokeen suorittamista koskevat yksityiskohtaiset ohjeet tarkistetaan *digene* HC2 DNA -testien pakkausselosteista.

CE-merkintä tarkoittaa, että Pesupuskurikonstraatti (Wash Buffer Concentrate) täyttää in vitro-diagnostiikkaan tarkoitettua lääkinnällisistä laitteista annetun direktiivin 98/79/EY vaatimukset.

de

Risiko- und Sicherheitshinweise zu Inhaltsstoffen Die folgenden Risiko- und Sicherheitshinweise (R- und S-Sätze) treffen auf Komponenten des *digene* Wash Buffer Concentrate zu:

Wash Buffer Concentrate

Enthält Sodium azide. Achtung! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Inhalt/ Behälter einer anerkannten Abfallentsorgungsanlage zuführen.

Weitere Informationen

Siehe die Sicherheitsdatenblätter, verfügbar unter: www.qiagen.com/safety

Ausführliche Anleitungen zur Testdurchführung sind den entsprechenden Packungsbeilagen für den *digene* HC2-DNA-Test zu entnehmen.

Das CE-Zeichen gibt an, dass das Waschpuffer-Konzentrat (Wash Buffer Concentrate) den Anforderungen nach der EU Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika entspricht.



www.qiagen.com

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.